

Série A N° 2067
N° d'ordre
2934

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

R. BUVAT

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LA DÉDIFFÉRENCIATION
DES CELLULES VÉGÉTALES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le **1944**, devant la **Commission d'examen.**

M. PLANTÉFOL,	<i>Président.</i>
MM. G. MANGENOT,	} <i>Examineurs.</i>
GAUTHERET.	

PARIS

MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1944

Série A N° 2067

N° d'ordre

2934

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

R. BUVAT

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LA DÉDIFFÉRENCIATION
DES CELLULES VÉGÉTALES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le **1944**, devant la **Commission d'examen.**

M. PLANTEFOL,	<i>Président.</i>
MM. G. MANGENOT,	} <i>Examineurs.</i>
GAUTHERET.	

PARIS

MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1944

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen..... M. P. MONTEL.

PROFESSEURS

Charles PÉREZ	T Zoologie.	CROZE	T Physique théorique et physique céleste.
L. BLARINGHEM	T Botanique.	DUPONT	T Théories chimiques.
G. JULIA	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	VALIRON	T Calcul différentiel et Calcul intégral.
C. MAUGUIN	T Minéralogie.	BARRABÉ	Géologie structurale et géologie appliquée.
A. DENJOY	T Géométrie supérieure.	F. PERRIN	Théories physiques.
L. LUTAUD	T Géographie physique et géologie dynamique.	VAVON	T Analyse et mesures chimiques.
G. BRUHAT	T Physique.	G. DARMOIS.....	T Mathématiques générales.
E. DARMOIS	T Enseignement de Physique.	CHATTON	T Biologie maritime.
A. DEBIERNE	T Électronique et Radioactivité.	AUBEL	Chimie biologique.
L. DUNOYER	T Chimie physique.	Jacques BOURCART ..	Géographie physique et Géologie dynamique.
M. JAVILLIER	T Chimie biologique.	M ^{me} JOLIOT-CURIE...	Physique générale et Radioactivité.
Henri VILLAT	T Mécanique des fluides et applications.	PLANTEFOL	T Botanique.
Ch. JACOB	T Géologie.	CABANNES	T Recherches physiques.
P. PASCAL	T Chimie générale.	GRASSÉ	T Zoologie (Évolution des êtres organisés)
M. FRÉCHET	T Calcul des probabilités et Physique mathématique.	PRÉVOST	Chimie organique.
E. ESCLANGON	T Astronomie.	BOULIGAND	Mathématiques.
H. BÉGHIN	T Mécanique physique et expérimentale.	CHAUDRON	Chimie.
FOCH	T Mécanique expérimentale des fluides.	WYART	Minéralogie.
PAUTHENIER	T Électrotechnique générale.	TEISSIER.....	Zoologie.
De BROGLIE	T Théories physiques.	MANGENOT	Biologie végétale (P. C. B.).
CHRÉTIEN	Optique appliquée.	P. AUGER	Physique.
PRENANT	T Anatomie et Histologie comparées.	MONNIER	Physiologie générale.
COMBES.....	T Physiologie végétale.	PIVETEAU	Géologie.
GARNIER.....	T Application de l'analyse à la Géométrie.	ROCARD	Physique.
PÉRÈS	T Mécanique rationnelle.	H. CARTAN	Calcul différentiel.
HACKSPILL	T Chimie minérale.	SCHLEFFER	T Physiologie générale.
TOUSSAINT	Technique Aéronautique.	LAFITTE	Chimie (P. C. B.).
M. CURIE.....	Physique (P. C. B.).	LERAY	Mécanique théorique des fluides.
G. RIBAUD	T Hautes températures.	FAVART.....	Calcul des probabilités et Physique-Mathématique.
CHAZY	T Mécanique analytique.	COULOMB.....	T Physique du Globe.
GAULT.....	T Chimie (P. C. B.).	M ^{lle} COUSIN	Biologie animale.

Secrétaire..... CH. MONIER.



DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

LA PHYSIOLOGIE DE LA SEXUALITÉ CHEZ LES ALGUES VERTES

Vu et approuvé :

Paris, le 3 Mars 1944.

Le Doyen de la Faculté des Sciences :

P. MONTEL.

Vu

et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie
de Paris :

G. GIDEL.

RECHERCHES
SUR LA DÉDIFFÉRENCIATION
DES CELLULES VÉGÉTALES

Par R. BUVAT

A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE
A MON PÈRE
A MA FEMME

A MON MAITRE
M. LE PROFESSEUR
A. GUILLIERMOND,
MEMBRE DE L'INSTITUT

*En témoignage de ma profonde gratitude et de
ma respectueuse admiration.*

RECHERCHES SUR LA DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES VÉGÉTALES

Par R. BUVAT

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	1
PLAN	5
HISTORIQUE	6
CHAPITRE PREMIER. — LA DÉDIFFÉRENCIATION CHEZ LES ANIMAUX	6
I. — Les phénomènes de dédifférenciation et les métamorphoses.....	6
II. — Les phénomènes de dédifférenciation et la culture des tissus animaux.....	7
III. — Les phénomènes de dédifférenciation et la régénération	11
IV. — Conclusions	13
CHAPITRE II. — LA DÉDIFFÉRENCIATION CHEZ LES VÉGÉTAUX ..	14
I. — Les phénomènes de dédifférenciation dans l'ontogénie normale	14
II. — Les phénomènes de dédifférenciation provoqués expérimentalement	19
A. — PHÉNOMÈNES DE DÉDIFFÉRENCIATION PROVOQUÉS PAR DES PERTURBATIONS DES CORRÉLATIONS ORGANIQUES	20
1° <i>Dédifférenciations dues à des excitations internes.</i> — Dédifférenciations consé- cutives à l'hybridation	20
2° <i>Dédifférenciations dues à des excitations externes.</i> — a. Dédifférencia- tions provoquées par des traumatismes; b. Dédifférenciations provoquées par des agents chimiques; c. Dédifférenciations provoquées par des excitations parasitaires	21
B. — PHÉNOMÈNES DE DÉDIFFÉRENCIATION PROVOQUÉS PAR LA SUPPRESSION DE CORRÉLATIONS ORGANIQUES.....	22
1° <i>La dédifférenciation dans les fragments d'organes végétaux isolés</i> : a. La dé- différenciation dans le bouturage des Cryptogames; b. La dédifférenciation dans le bouturage des Phanérogames : la dédifférenciation dans les boutures de racines; la dédifférenciation dans les boutures de tiges; la dédifférenciation dans les boutures de feuilles	22
2° <i>La dédifférenciation dans les fragments de tissus végétaux isolés.</i> La dédifféren- ciation dans les cultures de tissus végétaux	36
III. — Conclusions	38
TECHNIQUES CYTOLOGIQUES GÉNÉRALES.....	41
I. — Techniques de fixation	41
II. — Techniques d'imprégnation	43
III. — Techniques de microtomie.....	44

IV. — Techniques de coloration	44
V. — Observations vitales.	46
VI. — Techniques cytochimiques	47
VII. — Études quantitatives	49
VIII. — Techniques d'illustration	50

**PREMIÈRE PARTIE. — LES PHÉNOMÈNES DE DÉDIFFÉRENCIATION
DANS LA FORMATION DES RACINES ADVENTIVES SUR LES
TIGES DE TOMATE** 51

CHAPITRE PREMIER. — INTRODUCTION ET TECHNIQUES 51

I. — Techniques expérimentales	51
II. — Techniques cytologiques	52

CHAPITRE II. — ÉTUDES MORPHOLOGIQUES ET HISTOLOGIQUES 54

I. — Anatomie de la tige normale	54
II. — Observations morphologiques externes.	56
III. — Origine et construction des ébauches	56

Les premières divisions et l'origine des cellules méristématiques. — L'édification des ébauches radiculaires. — Les remaniements de cellules corticales

56

CHAPITRE III. — ÉTUDES CYTOLOGIQUES 61

I. — Structure des divers types cellulaires de la tige normale.....	61
II. — La dédifférenciation des cellules du péricycle	64

A. — CAS DES RACINES PROVOQUÉES SUR DES PLANTES ENTIÈRES 64

La première phase de dédifférenciation : *La régression des chloroplastes. Les modifications des chondriosomes.* — La seconde phase de dédifférenciation : *L'évolution du noyau. L'évolution du cytoplasme et des vacuoles. Le comportement du chondriome au cours de la seconde phase.* — Les granulations lipidiques

64

B. — CAS DES BOUTURES DE TIGES 69

La régression des chloroplastes amylières. L'évolution des chondriosomes ...

69

C. — CAS DES FORMATIONS ADVENTIVES SPONTANÉES 70

Différenciation du chondriome dans les ébauches dont la croissance est suspendue. Différenciations intravacuolaires dans les ébauches dont la croissance est suspendue

70

III. — La dédifférenciation des cellules chlorophylliennes du parenchyme libérien ... 74

L'apparition des processus de dédifférenciation. — La première phase de dédifférenciation : *La régression des chloroplastes. L'évolution des chondriosomes.* — La seconde phase de dédifférenciation

74

IV. — La dédifférenciation des cellules non chlorophylliennes du parenchyme libérien ... 76

V. — La dédifférenciation des cellules compagnes et des tubes criblés jeunes 77

La première phase de dédifférenciation. — La seconde phase de dédifférenciation...

78

VI. — La dédifférenciation des cellules de l'endoderme 79

La première phase de dédifférenciation des cellules endodermiques : *La dédifférenciation des chloroplastes. Les modifications des chondriosomes.* — La seconde phase de dédifférenciation

79

VII. — L'évolution des autres cellules corticales 81

Comportement de l'assise corticale interne. — Comportement des assises collenchymateuses de l'écorce moyenne

81

DEUXIÈME PARTIE. — LA DÉDIFFÉRENCIATION DANS LES BOU- TURES DE LIMBE FOLIAIRE DE <i>Brimeura amethystina</i> L.	85
CHAPITRE PREMIER. — INTRODUCTION ET TECHNIQUES	85
I. — Position systématique, diagnose et biologie de <i>Brimeura Amethystina</i> L...	85
II. — Techniques de bouturage	86
III. — Techniques cytologiques	87
CHAPITRE II. — PHÉNOMÈNES MORPHOLOGIQUES	88
CHAPITRE III. — ÉTUDES HISTOLOGIQUES	90
I. — Structure de la feuille normale.	90
II. — Origine des bulbilles	91
III. — Origine des racines	93
CHAPITRE IV. — ÉTUDES CYTOLOGIQUES	97
I. — La dédifférenciation des cellules épidermiques	97
Les cellules épidermiques normales. — Les premiers signes de l'activation des cel- lules épidermiques, évolution du noyau. — Évolution du chondriome. — Évo- lution du cytoplasme et des vacuoles. — La membrane squelettique	97
II. — La dédifférenciation des cellules du mésophylle	103
Cellules chlorophylliennes du mésophylle normal. — Les premiers signes de la reprise d'activité prolifératrice. — La phase amylogène. — La phase de dédiffé- renciation : <i>Études caryologiques. La dédifférenciation des leucoplastes et des chon- driosomes. Les modifications du cytoplasme et des vacuoles.</i> — Les transformations de la membrane squelettique. — Les raccords vasculaires	103
TROISIÈME PARTIE. — LA DÉDIFFÉRENCIATION DANS LES CUL- TURES IN VITRO DU PARENCHYME LIBÉRIEN DE CAROTTE.	113
CHAPITRE PREMIER. — INTRODUCTION ET TECHNIQUES	113
I. — Introduction	113
II. — Techniques de culture des tissus cambial et libérien.	113
Préparation du milieu de culture. — Récipients de culture et leur préparation. — Prélèvement des pièces	114
III. — Techniques histologiques et cytologiques.	119
CHAPITRE II. — ÉTUDES MORPHOLOGIQUES ET HISTOLOGIQUES	120
I. — La prolifération polarisée du tissu cambial.	120
II. — Les réactions du tissu libérien	120
III. — La dualité d'origine des racines.	122
IV. — L'édification des méristèmes radiculaires.	124
CHAPITRE III. — ÉTUDES CYTOLOGIQUES	127
I. — Structure des cellules méristématiques primaires, des cellules cambiales et des cellules du parenchyme libérien normal.	127
II. — La première phase de dédifférenciation des cellules du parenchyme libérien (phase préliminaire)	131
La disparition de l'amidon. — La structure des cellules du liber à la fin de la pre- mière phase de dédifférenciation.	131
III. — La seconde phase de dédifférenciation.	134
Les premières mitoses. — La dédifférenciation des chromoplastes. <i>La séparation des cristallites de carotène et de la substance plastidiale. La résorption du carotène à l'intérieur des chromoplastes. L'achèvement de la dédifférenciation des chromo-</i>	

<i>plastés. Le comportement des cristaux de carotène libérés dans le cytoplasme. — L'évolution des chondriosomes. — Les granulations liposolubles. — La structure des cellules à la fin de la seconde phase de dédifférenciation.</i>	134
IV. — La dernière phase de dédifférenciation.	144
Les modifications du noyau. — L'évolution du cytoplasme et des vacuoles. — Le comportement du chondriome.	144
QUATRIÈME PARTIE. — LES PHÉNOMÈNES DE DÉDIFFÉRENCIATION DANS LES CULTURES DE TISSUS DU TUBERCULE DE <i>CICHORIUM INTYBUS</i> L. var. (CHICORÉE A CAFÉ DE MAGDEBOURG).	149
CHAPITRE PREMIER. — MATÉRIEL ET TECHNIQUES.	149
I. — Le matériel végétal : Endive et Chicorée à café.	149
II. — Techniques de culture.	150
Milieux et récipients de culture. — Opérations de prélèvement.	150
III. — Techniques histologiques et cytologiques.	151
CHAPITRE II. — ÉTUDE MORPHOLOGIQUE ET HISTOLOGIQUE.	152
I. — Anatomie des tubercules normaux.	152
II. — Anatomie des néoformations de la région supérieure des explantats.	153
III. — Histologie du bourgeonnement <i>in vitro</i>.	154
Diverses origines des bourgeons. — L'édification des méristèmes.	154
CHAPITRE III. — RECHERCHES CYTOLOGIQUES.	158
I. — Principaux types cellulaires du tubercule normal.	158
Structure des cellules de la zone génératrice libéro-ligneuse. — Structure des cellules du parenchyme vasculaire. — Structure des cellules du parenchyme libérien. — Structure des pseudolaticifères et des cellules voisines.	158
II. — La première phase de dédifférenciation.	160
1° CELLULES DU PARENCHYME LIBÉRIEN	160
La régression des plastas : a. <i>Dédifférenciation par élimination de la substance peu colorable des plastas</i> ; b. <i>Dédifférenciation par élimination des vésicules plastidiales</i> ; c. <i>La résorption des vésicules à l'intérieur des plastas</i> . — Évolution des chondriosomes au cours de la première phase.	161
2° LA PREMIÈRE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION DANS LES AUTRES TISSUS DE LA RACINE	163
III. — La seconde phase de dédifférenciation.	164
L'évolution du noyau. — Les modifications du cytoplasme et des vacuoles. — L'évolution du chondriome à la fin de la dédifférenciation.	164
CINQUIÈME PARTIE. — LES PHÉNOMÈNES DE DÉDIFFÉRENCIATION DANS LE DÉVELOPPEMENT DES TUMEURS PRODUITES PAR <i>PHYTOMONAS TUMEFACIONS</i> SUR LA TIGE DE TOMATE.	167
CHAPITRE PREMIER. — INTRODUCTION ET TECHNIQUES.	167
Matériel et technique expérimentale. — Techniques histologiques et cytologiques.	168
CHAPITRE II. — ÉTUDES MORPHOLOGIQUES ET HISTOLOGIQUES.	170
I. — Aspects morphologiques du développement des tumeurs.	170
II. — Phénomènes histologiques.	170
Processus de cicatrisation. — Processus de prolifération conduisant à l'édification des tumeurs. — Rhizogenèse consécutive à l'infestation.	171
CHAPITRE III. — ÉTUDE CYTOLOGIQUE DES PROCESSUS DE DÉDIFFÉRENCIATION RELATIFS AU DÉVELOPPEMENT DES TUMEURS.	177
I. — Caractères cytologiques des cellules primitives.	177

II. — La première phase de dédifférenciation	178
A. — LA DÉDIFFÉRENCIATION DES PREMIÈRES CELLULES DE L'ÉBAUCHE.....	178
L'évolution des chondriosomes. — La dédifférenciation des chloroplastes.....	178
B. — LA DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES CORTICALES VOISINES DES TUMEURS.....	179
La dédifférenciation des chloroplastes. — L'évolution des chondriosomes.....	179
III. — Les déviations évolutives au cours de la première phase	180
A. — LA VÉSICULISATION RÉVERSIBLE DES CHLOROPLASTES.....	180
B. — LA VÉSICULISATION IRRÉVERSIBLE DES CHONDRIOSOMES ET DES PLASTES.....	181
IV. — Caractères cytologiques des tumeurs après la première phase de dédifférenciation	181
V. — La seconde phase de dédifférenciation	182
Évolution du noyau. — Évolution du cytoplasme et des vacuoles. — Évolution du chondriome au cours de la seconde phase.....	182
CHAPITRE IV. — ÉTUDE CYTOLOGIQUE DES PROCESSUS DE DÉDIFFÉRENCIATION DANS LES ÉBAUCHES RADICULAIRES INDUITES PAR LES TUMEURS	186
CHAPITRE V. — LA PÉNÉTRATION ET LA LOCALISATION DE LA BACTÉRIE	188
I. — Aperçu historique.....	188
II. — Techniques.....	189
III. — La pénétration de la bactérie.....	190
IV. — La bactérie dans les tumeurs âgées.....	190
CHAPITRE VI. — LES TUMEURS CORTICALES DE TOMATE ET LA QUESTION DES ANOMALIES NUCLÉAIRES PRODUITES PAR <i>P. tumefaciens</i>	192
I. — Aperçu historique.....	192
II. — Observations personnelles.....	193
CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES	195
CHAPITRE PREMIER. — ÉTUDES HISTOLOGIQUES	195
I. — L'origine des cellules dédifférenciées.....	195
II. — L'édification et la structure comparée des méristèmes de tiges et des méristèmes de racines.....	196
III. — Remarques sur le fonctionnement des méristèmes apicaux.....	198
CHAPITRE II. — ÉTUDES CYTOLOGIQUES	200
I. — Caractères cytologiques des méristèmes.....	200
Caractères cytologiques des méristèmes primaires. — Caractères cytologiques des méristèmes secondaires. — Comparaison et conclusion.....	200
II. — La phase préliminaire.....	202
III. — La première phase de dédifférenciation.....	203
Les premières mitoses. — La dédifférenciation des plastes. — L'évolution générale des chondriosomes au cours de la première phase. — La vésiculation réversible et la vésiculation irréversible des chondriosomes. — La structure des cellules à la fin de la première phase.....	203
IV. — La seconde phase de dédifférenciation.....	207
L'évolution du noyau. — L'évolution du cytoplasme et des vacuoles. — L'évolution du chondriome. — L'aboutissement de la seconde phase de dédifférenciation.....	207
CHAPITRE III. — CONSIDÉRATIONS PHYSIOLOGIQUES	211
I. — Remarques sur les modalités du retour à l'état indifférencié.....	211
Le changement de spécialisation sans retour à l'état embryonnaire. — Prolifération et organogenèse.....	211

II. — Les indications physiologiques fournies par l'évolution morphologique des constituants cellulaires	213
La sensibilité réactionnelle du chondriome. — Les modifications de l'appareil vacuolaire	213
III. — La plasticité des cellules végétales.....	215
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....	217
EXPLICATION DES PLANCHES.....	229

INTRODUCTION

Le but lointain des sciences biologiques est la découverte des mécanismes de la vie. Mais l'analyse de ces mécanismes, qui est l'objet de la Physiologie, nécessite la connaissance préalable de la structure des êtres vivants. Par conséquent, il est indispensable de connaître la Morphologie des organismes entiers, des organes, des tissus et des cellules qui représentent leurs unités fondamentales.

A la fin du siècle dernier, la Morphologie et la Physiologie des organes et des tissus avaient déjà fait l'objet de nombreuses recherches. Au contraire, l'étude de la cellule était beaucoup moins avancée, et même la morphologie cellulaire était peu connue. Malgré des découvertes remarquables, comme celles de FLEMING et de STRASBURGER sur la caryocinèse, cette étude morphologique n'avança que très lentement, et ce n'est que dans ces dernières années que la *Cytologie descriptive* devint une science précise. Les principales acquisitions réalisées dans ce domaine sont le fruit de quarante années de recherches et sont dues essentiellement, en ce qui concerne la cellule végétale, aux travaux de P.-A. DANGEARD et de A. GUILLIERMOND. Les minutieuses observations de DANGEARD n'ont pas conduit cet auteur à une interprétation satisfaisante de la constitution des cellules végétales, mais elles ont eu le grand mérite de dégager les grandes lignes de la morphologie cellulaire. C'est à GUILLIERMOND que nous devons la connaissance précise de la structure de la cellule.

La morphologie cellulaire étant connue, il semblait possible de passer à la physiologie ; mais ce passage ne pouvait se faire sans transition, car, avant d'envisager le fonctionnement de la cellule, il convenait en effet d'étudier son évolution, et de déceler les facteurs physiologiques dont elle est le reflet. GUILLIERMOND et ses élèves se trouvaient donc amenés naturellement à des recherches sur l'évolution des constituants cellulaires au cours du développement des plantes. Les deux principaux problèmes qui se posaient dans ces conditions concernaient la différenciation cellulaire et le phénomène inverse ou dédifférenciation. Le premier était déjà à l'étude lorsque M. GUILLIERMOND nous confia le second.

Primitivement, nous avions donc espéré que nos recherches nous conduiraient à envisager des questions touchant à la physiologie cellulaire. Dans notre pensée, l'étude évolutive devait seulement constituer le préambule d'une étude physiologique, mais il ne nous a pas été possible d'aller au delà de ce stade préliminaire. Notre travail sort déjà du cadre de la cytologie descriptive, mais n'atteint pas vraiment celui de la physiologie cellulaire, que nous considérons comme le plus important. Nous n'avons pourtant jamais renoncé au projet d'aborder directement l'étude physiologique de la dédifférenciation, mais le temps nécessaire à l'apprentissage des techniques, les difficultés suscitées par la variabilité des tissus végétaux, et surtout la complexité imprévue des phénomènes morpholo-

giques que nous avons rencontrés nous ont contraint à limiter le champ de nos recherches.

D'ailleurs, l'étude morphologique s'est révélée plus importante que nous ne l'avions supposée. Elle nous a souvent permis de caractériser des états physiologiques de la cellule, et s'est bien présentée à cet égard comme une transition entre la morphologie et la physiologie. Notre travail a, d'autre part, un caractère nettement expérimental, car nous avons dû provoquer les processus de dédifférenciation pour chacun des exemples que nous avons étudiés. Par exemple, nous avons utilisé les techniques de culture des tissus végétaux, très peu de temps après leur invention et leur mise au point par R.-J. GAUTHERET, à qui nous devons beaucoup pour la mise en œuvre de ce travail. Enfin, ces recherches, bien que morphologiques, nous ont permis d'apporter une contribution effective à certaines questions de physiologie.

Après avoir indiqué l'origine de notre travail, il est nécessaire que nous en précisions la nature. Il faut pour cela définir les termes de *différenciation* et de *dédifférenciation cellulaires*.

Pour comprendre ce que représente la *différenciation*, examinons le développement d'un organisme pluricellulaire. Cet organisme se compose d'abord d'une seule cellule ou cellule-œuf, qui se divise un grand nombre de fois pour former un embryon où apparaissent, en plus des fonctions générales, communes à toutes les cellules, des fonctions physiologiques spéciales. Au lieu de les accomplir toutes, chaque cellule se spécialise dans l'exercice d'une ou de plusieurs de ces fonctions ; ainsi, les cellules de l'embryon se *différencient* physiologiquement les unes des autres. L'apparition de ces fonctions spéciales entraîne des adaptations structurales, donc une *différenciation morphologique*, et en outre l'activité spécifique des cellules se traduit généralement par la formation de *produits d'élaboration*. D'autre part, tandis que la cellule-œuf, qui donne naissance à toutes les cellules de l'organisme, est *totipotente*, les cellules en voie de différenciation, considérées à des stades de plus en plus avancés du développement, se divisent de moins en moins activement et leur descendance ne se diversifie qu'en un nombre de plus en plus restreint de types cellulaires ; la différenciation comporte donc la réduction progressive des potentialités histogénétiques. Lorsque les cellules ont atteint le terme de leur évolution, elles cessent généralement de se diviser.

Les organes qui s'édifient au cours de la différenciation ne sont pas autonomes ; ils réagissent les uns sur les autres, et l'ensemble de ces actions réciproques est désigné par l'expression de *corrélations organiques*. Les corrélations entretiennent un état d'équilibre, car elles empêchent tout développement excessif d'un organe par rapport aux autres. Cette action inhibitrice est responsable de la perte de l'activité prolifératrice et des potentialités histogénétiques, qui indique l'achèvement de la différenciation. La *différenciation cellulaire* est donc caractérisée par les faits suivants :

- 1° Apparition de fonctions physiologiques spécialisées ;
- 2° Modifications structurales nécessitées par l'adaptation à ces fonctions ;

3° Formation de produits d'élaboration, dits *paraplasmiques*, qui s'accumulent dans la cellule, d'où accroissement du rapport $\frac{\text{paraplasme}}{\text{protoplasme}}$;

4° Perte de l'activité prolifératrice ;

5° Réduction et extinction des potentialités histogénétiques.

Ainsi, la différenciation cellulaire résulte essentiellement des corrélations organiques, qui entretiennent un état d'équilibre dans l'organisme adulte. Si l'on détruit cet équilibre, par exemple en affranchissant les tissus des corrélations organiques auxquelles ils sont normalement soumis, les causes de la différenciation cessent et des cellules différenciées sont capables de subir une régression. Elles retrouvent le pouvoir de se diviser et perdent en même temps les caractères structuraux de différenciation ainsi que l'activité physiologique spécialisée. Parmi les cellules ainsi régressées, certaines, qui dérivent d'un seul tissu de l'organisme adulte, peuvent se spécialiser de nouveau en donnant naissance à plusieurs types de cellules différenciées ; elles manifestent dans ce cas des potentialités histogénétiques multiples. Tous ces caractères les rapprochent transitoirement des cellules embryonnaires : nous dirons qu'elles se sont *dédifférenciées*.

La *dédifférenciation* est donc le processus inverse de la différenciation, c'est un rajeunissement des cellules, qui leur fait recouvrer ce qu'elles avaient perdu en se différenciant. On a souvent pris à tort pour des dédifférenciations des phénomènes tout autres, car on n'a pas toujours saisi que l'on doit trouver, dans la dédifférenciation, tous les caractères de la différenciation, à rebours, c'est-à-dire :

1° La perte des fonctions physiologiques spécifiques ;

2° La perte des caractères structuraux de spécialisation ;

3° La diminution du rapport $\frac{\text{paraplasme}}{\text{protoplasme}}$;

4° La reprise de l'activité prolifératrice ;

5° L'acquisition de potentialités histogénétiques étendues.

Au cours de l'exposé de nos recherches, nous nous attacherons donc à montrer que toutes ces conditions sont bien réalisées dans les exemples que nous avons étudiés. La dernière, en particulier, n'a pas toujours retenu l'attention des auteurs, et il en est résulté des erreurs d'interprétations dont nous aurons à parler.

Ces caractéristiques de la dédifférenciation pourraient susciter de nombreuses recherches, tant de morphologie que de physiologie. Dans ce mémoire nous nous attacherons à l'étude des processus morphologiques, mais ceux-ci se montrent si étroitement liés aux phénomènes physiologiques que nous en déduirons bien des faits relatifs à ce dernier domaine.

Nos recherches cytologiques apporteront, en effet, des indications sur :

La reprise de l'activité prolifératrice ;

La perte des caractères structuraux de la différenciation ;

La diminution du rapport $\frac{\text{paraplasme}}{\text{protoplasme}}$.

D'autre part, les recherches histologiques porteront en particulier sur l'acquisition de potentialités histogénétiques étendues et fourniront des renseignements d'ordre physiologique sur les premières manifestations de ces potentialités. Quant à l'étude cytologique, elle nous permettra de déceler des états physiologiques successifs lors de la perte des fonctions spécifiques. C'est en cela que notre étude peut servir de transition entre la morphologie et la physiologie cellulaires.

Avant d'aborder l'exposé de nos résultats, nous tenons à exprimer nos sentiments à l'égard des maîtres qui nous ont guidé et soutenu avec tant de sollicitude au cours de ces années. Que M. le professeur A. GUILLIERMOND, membre de l'Institut, veuille bien trouver ici l'expression de notre profonde gratitude. Nous lui devons la plus grande de nos ambitions, celle de devenir cytologiste. Nous renonçons à dépeindre les joies que nous avons eues depuis qu'il nous a reçu dans son laboratoire, à l'automne 1936, pour y préparer un diplôme d'études supérieures. L'impression que nous fit sa grande expérience est toujours aussi forte et nous n'en avons que plus vivement regretté les circonstances pénibles de la guerre qui l'ont éloigné de nous alors que nous étions à peine engagé dans ces recherches.

Mais il est probable que nous n'aurions pas pu entreprendre ce travail si nous n'avions pas trouvé la situation matérielle qui nous a permis de nous y consacrer. En nous appelant comme agrégé-préparateur à l'École Normale, quelques semaines après l'agrégation, M. L. PLANTEFOL, professeur à la Sorbonne, nous a permis de commencer nos recherches beaucoup plus tôt que nous ne pouvions l'espérer. Nous apprécions le privilège que nous avons eu de travailler auprès de lui et nous souhaitons profiter longtemps encore de ses conseils. En particulier, nous ne saurions exprimer combien ils nous ont été précieux pour l'enseignement qu'il nous a confié. Nous avons trouvé à ses côtés non seulement les avantages matériels d'un laboratoire moderne, mais aussi ce milieu spirituel qui a continué pour nous les heureuses années d'école, et que nous ne quitterions pas encore volontiers aujourd'hui.

M. le professeur L. BLARINGHEM, membre de l'Institut, a bien voulu présenter nos notes à l'Académie des Sciences. En acceptant notre mémoire dans les *Annales des Sciences Naturelles*, dont il dirige la section de *Botanique*, il nous a fait une faveur que nous apprécions tout particulièrement en ces années où les revues scientifiques ont des moyens si limités. Nous le prions de trouver ici l'expression de notre sincère reconnaissance.

M. G. MANGENOT, professeur à la Sorbonne, à qui nous avons dû faire part bien souvent des difficultés qui nous tenaient en échec, nous a toujours réservé l'accueil le plus complaisant. Les conversations que nous avons eues avec lui ont souvent jeté beaucoup de clarté sur nos travaux, et ses conseils nous ont toujours été particulièrement profitables. Nous lui exprimons notre profonde gratitude.

Lorsque, de retour au laboratoire après l'interruption de la guerre, nous n'avons pas retrouvé M. GUILLIERMOND, demeuré loin de Paris,

c'est à M. R.-J. GAUTHERET, maître de Conférences à la Sorbonne, que nous devons de ne pas avoir été livré à nous-même. Nous avons contracté envers lui une lourde dette de reconnaissance, il a suivi de très près notre travail et nous a toujours guidé avec une clairvoyance qui nous a souvent réconforté. Nous n'oublierons pas la sollicitude inlassable avec laquelle il s'est maintes fois détourné de ses propres travaux pour nous prodiguer son temps.

Nous exprimons également notre gratitude à M. le professeur P. CHOUARD, qui a eu l'obligeance de nous procurer des bulbes de *Brimeura amethystina*. Cette Liliacée, qu'il a introduite à l'occasion de ses travaux dans les jardins de l'École d'Horticulture de Versailles et du Muséum, s'est montrée très intéressante pour nos recherches.

L'illustration et la publication de ce mémoire n'auraient pu être menées à bien sans la subvention qui nous a été accordée par le Centre National de la Recherche Scientifique. Nous en remercions particulièrement les membres de la Commission de Biologie végétale.

Et nous ne pouvons pas terminer cette introduction sans remercier encore tous ceux, maîtres, camarades, collègues ou amis, qui non seulement nous ont obligé au cours de ce travail, mais encore, surtout peut-être, ont fait que ces années nous laissent un souvenir si sympathique.

PLAN

Nous commencerons notre mémoire par un historique dans lequel nous opposerons le comportement des cellules animales à celui des cellules végétales au point de vue de la dédifférenciation.

Nous résumerons ensuite les techniques cytologiques les plus générales dont nous avons fait un usage constant au cours de nos recherches.

Nous pourrons alors aborder l'exposé de nos recherches personnelles sur la dédifférenciation, que nous diviserons en cinq parties.

La première partie sera consacrée à l'étude de la formation des racines adventives sur les tiges de Tomate (*Lycopersicum esculentum*).

La seconde partie étudiera les boutures de feuilles de *Brimeura Amethystina* L. (Liliacée), où se produisent d'une part des bulbilles et d'autre part des racines.

Dans la troisième partie, nous décrirons la dédifférenciation des cellules du parenchyme libérien de Carotte (*Daucus carota* L.), cultivé *in vitro* en présence d'acide indole- β -acétique.

Le bourgeonnement des tissus du tubercule de Chicorée à café (*Cichorium intybus* var.), également en culture de tissus, fera l'objet de la quatrième partie.

La cinquième partie concernera les processus de dédifférenciation qui se manifestent dans les tumeurs de type *Crown-gall*, produites par infestation superficielle de tiges de Tomates.

Enfin, dans un dernier chapitre, nous exposerons les conclusions générales auxquelles nos recherches nous ont permis d'aboutir.

HISTORIQUE

La dédifférenciation cellulaire ne semble avoir fait encore l'objet d'aucune étude bibliographique chez les Végétaux, où cette question n'a guère été discutée jusqu'à ce jour. Chez les Animaux, au contraire, on a déjà beaucoup parlé de dédifférenciation. Nous commencerons donc cet historique par un bref résumé des principaux travaux de biologie animale touchant à ce problème ; nous examinerons ensuite les principales circonstances dans lesquelles la dédifférenciation peut se produire chez les Végétaux.

CHAPITRE PREMIER

LA DÉDIFFÉRENCIATION CHEZ LES ANIMAUX

D'après ce que nous avons dit au cours de l'introduction, il est naturel de rechercher des phénomènes de dédifférenciation dans les organismes ou les fragments d'organismes chez lesquels l'équilibre entretenu par le jeu des corrélations organiques a été rompu. Parfois, ces incidents se produisent normalement au cours du développement individuel, d'autres fois ils doivent être provoqués expérimentalement par isolement d'un fragment d'organisme, d'organe ou de tissu. Le premier cas comprend surtout les métamorphoses ; dans le second, nous rencontrerons les questions de la régénération et des cultures de tissus animaux.

I. — Les phénomènes de dédifférenciation et les métamorphoses.

L'histologie des métamorphoses a fait l'objet de nombreux travaux, qui ont conduit à des résultats souvent contradictoires et à de fréquentes controverses. Toutefois, au moins chez les Insectes Holométaboles, dont les métamorphoses sont parmi les plus profondes, il semble bien, en particulier à la suite des travaux de CH. PÉREZ [208 à 210] (1902, 1910, 1911), que les processus histologiques mis en œuvre puissent être groupés en trois ensembles. Ce sont, d'après PÉREZ : 1° des atrophies totales, définitives des organes larvaires les plus spécialisés ;

2° Des édifications entièrement nouvelles d'organes imaginaires à partir d'*histoblastes* embryonnaires, restés latents pendant la vie larvaire ;

3° Des remaniements sur place, faisant passer de la larve à l'imago des organes moins spécialisés et susceptibles de pouvoir prendre place successivement dans l'organisme larvaire et dans l'organisme imaginal.

Les deux premiers processus ne supposent pas de dédifférenciations, d'autant moins que PÉREZ a montré que les *histoblastes* existent à l'état indifférencié depuis les plus jeunes stades larvaires.

Quant à la troisième catégorie de processus, réalisée par exemple pour certaines parties du tube digestif, PÉREZ a montré que les cellules larvaires peuvent perdre temporairement leurs différenciations structurales, mais reprennent ensuite les mêmes caractères de différenciation qu'elles avaient manifestés chez la larve. PÉREZ écrit, en effet [208, p. 341] : « *Mais je m'élève de la manière la plus catégorique contre cette opinion de BERLESE, d'après laquelle certaines cellules ayant déjà subi chez la larve une différenciation spéciale seraient ensuite capables d'évoluer à nouveau pendant la nymphose vers une autre spécialisation.* »

Nous n'insisterons donc pas davantage sur l'histologie des métamorphoses ; il semble bien que ces processus n'aient révélé aucun cas de véritable dédifférenciation.

II. — Les phénomènes de dédifférenciation et la culture des tissus animaux.

C'est surtout à propos de la culture des tissus animaux que les problèmes de la dédifférenciation ont été posés et discutés.

CHAMPY [42 à 46] (1912-1920), cultivant *in vitro* les tissus de divers organes, a observé la régression de structures spécialisées, intracellulaires et tissulaires. Les cultures de rein embryonnaire fournissent les résultats les plus intéressants ; l'auteur observe la prolifération des diverses parties du tube urinaire : glomérule, tube contourné, pièce intermédiaire, et constate qu'elles régressent à l'état de tissu épithélial commun. Ce tissu, d'abord différent de l'épithélium des tubes de Bellini, se confond bientôt avec ce dernier. Mais ce n'est là qu'une première étape de la dédifférenciation ; celle-ci se poursuivant, les cellules épithéliales se transforment en éléments de type conjonctif. La culture de fragments d'autres organes (thyroïde, testicule, muscles lisses...) conduit CHAMPY aux mêmes conclusions : certains processus et la vitesse de régression varient, mais on observe toujours le retour à un type de cellules soi-disant *indifférentes*.

Selon cet auteur, par conséquent, la dédifférenciation, qui se produit d'une manière très générale dans les cultures de tissus, va bien au delà de la perte des caractères structuraux de spécialisation et constitue une véritable dédifférenciation physiologique.

« *L'espoir de cultiver du rein ou du foie est vain ; on peut maintenir du rein en survie (organe adulte) ou cultiver des cellules d'origine rénale, mais qui ne sont plus rénales, qui n'ont plus aucun caractère : ce sont des cellules complètement indifférentes, qu'on ne saurait qualifier.* » (CHAMPY, 1913.)

L'idée de CHAMPY était fort intéressante, mais elle n'a pas été confirmée, car ce savant avait négligé l'un des caractères essentiels de la dédifférenciation : l'accroissement de potentialités histogénétiques. N'ayant pas étudié les possibilités d'évolution ultérieure des cellules prétendument dédifférenciées, ces potentialités lui avaient échappé. Or, d'après les résultats de recherches plus récentes, il est bien probable que ces cellules n'avaient pas été modifiées autrement que dans leur structure.

Parmi ces travaux plus récents, les cultures de *racés cellulaires* pures, réalisées pour la première fois par FISCHER [79] (1922), sur l'épithélium

iridien d'embryon de Poulet et les recherches sur la spécificité cellulaire *in vitro*, ont conduit à des conceptions différentes de celles de CHAMPY. De nombreux auteurs ont réalisé des cultures de races pures et ont montré que les cellules conservent une spécificité rigoureuse *in vitro*. Ces résultats semblent contredire formellement les conclusions de CHAMPY, cependant, nous constatons qu'il y a beaucoup de vrai dans les interprétations de cet auteur si nous admettons avec lui que la dédifférenciation se fait en trois étapes : la première est *intracellulaire* et amène la disparition des structures en rapport avec l'activité spécifique ; la seconde, *tissulaire*, entraîne la perte des dispositions histologiques spécialisées ; quant à la troisième, dite *blastodermique*, elle conduit à l'état embryonnaire préépithélial.

Remarquons tout d'abord que CHAMPY lui-même a montré que la seconde étape, tissulaire, est moins obligatoire que la première. Par exemple, dans les cultures de rein, les tubes épithéliaux persistent lorsque la culture comprend un tissu conjonctif, qui constitue un antagoniste. D'autres auteurs, tels que EBELING et FISCHER [70] (1922), ont établi qu'il peut en être de même lorsque la croissance est assez lente.

Au contraire, la dédifférenciation structurale intracellulaire, qui constitue la première étape de CHAMPY, est un fait très général. Elle semble bien démontrée en particulier par les travaux d'OLIVO [205] (1929), sur la dédifférenciation des myoblastes dans les cultures de fragments de cœur d'embryons de Poulet d'âge variable. L'auteur observe dans tous les cas que les myoblastes perdent leurs myofibrilles et se fragmentent en éléments mononucléés. Au début, ces myoblastes dédifférenciés sont toujours plus abondants que les fibroblastes et que les cellules endothéliales qui les accompagnent, mais cette prédominance ne subsiste que lorsqu'il s'agit d'embryons jeunes, car leur énergie de croissance est alors aussi grande que celle des fibroblastes. Au contraire, lorsqu'il s'agit de cultures de cœur d'embryons âgés, les myoblastes dédifférenciés ont un taux de croissance réduit, de sorte qu'on obtient, après quelques repiquages, des cultures de fibroblastes.

Dans ce dernier cas, la prépondérance finale des éléments conjonctifs a conduit certains auteurs, tels que LEWIS (M. R.) et LEWIS (W. H.) [171] (1924), à penser qu'il n'y avait pas en réalité de dédifférenciation, mais une substitution d'éléments moins différenciés aux éléments plus différenciés.

Ces auteurs ont peut-être raison dans certains cas, mais les travaux de G. LEVI [160] (1934), de CHÈVREMONT [47, 48] (1939 et 1940) et de LEVI et CHÈVREMONT [161] (1941), confirment les résultats d'OLIVO.

En particulier, LEVI et CHÈVREMONT ont montré que les fibres musculaires squelettiques perdent *in vitro* leur structure spécialisée, les myofibrilles deviennent lisses et se transforment en chondriocontes ; il se constitue ainsi des *bourgeons musculaires* sarco-plasmiques multinucléés. Ces éléments gardent en général une spécificité structurale bien nette, liée à la structure plasmodiale, mais « aussitôt que des territoires s'individualisent dans les bourgeons ou dans les anciennes fibres, cette structure devient pareille à celle des cellules à caractères embryonnaires ».

La dédifférenciation structurale apparaît donc comme un fait indiscutable, mais quelle signification doit-on lui attribuer ? Les recherches physiologiques d'OLIVO nous apportent déjà quelques renseignements à ce sujet.

OLIVO étudie les facteurs qui influencent la vitesse de dédifférenciation ; il montre d'abord qu'elle est plus rapide lorsque les explantats sont plus âgés, car les fragments d'embryons très jeunes continuent à se différencier *in vitro* pendant quelque temps avant de subir la régression. L'extrait embryonnaire accélère cette régression, tandis que l'activité contractile de l'explant n'a pas d'influence. Mais OLIVO note, par ailleurs, que les modifications de cette activité se produisent corrélativement à l'évolution cytologique des myoblastes.

En somme, la dédifférenciation *concerne en même temps la perte des caractères structuraux spécialisés et la suspension de l'activité fonctionnelle spécifique*. Cependant, l'auteur considère que ces éléments ne sont pas comparables aux myoblastes jeunes qui n'ont encore pas subi la différenciation et qu'ils conservent des propriétés différencielles ; dans ces conditions, la perte des caractères structuraux et la suspension de l'activité spécifique ne nous renseignent pas sur les potentialités des cellules.

En résumé, la première étape de dédifférenciation distinguée par CHAMPY est irréfutable, mais elle ne concerne que la perte de la différenciation structurale accompagnant l'arrêt de l'activité physiologique spécialisée, et elle n'implique aucune extension des potentialités histogénétiques des cellules considérées.

La nécessité de cette réserve est particulièrement bien démontrée par d'autres résultats des cultures pures de races cellulaires auxquelles nous avons fait allusion précédemment. Les travaux d'OLIVO nous ont déjà montré que la dédifférenciation est d'autant plus rapide que les conditions sont plus favorables à la multiplication cellulaire. L'auteur note, en effet, que l'extrait embryonnaire accélère l'une et l'autre. De nombreux auteurs ont confirmé ces faits qui montrent un antagonisme entre l'exercice de l'activité fonctionnelle spécifique, toujours liée à la différenciation structurale et la multiplication cellulaire active.

Nous citerons d'abord des observations occasionnelles telles que celles d'EBELING [69] (1925), qui remarque que les cultures d'épithélium thyroïdien ne produisent pas de substance colloïde dans les conditions optima de croissance. De même, FISCHER [80] (1927) signale que les cultures d'épithélium ne s'organisent ni ne se kératinisent que dans les régions centrales où l'épaississement de la culture entrave la prolifération cellulaire. KAPPEL, enfin [143] (1927), observe, sur des cultures d'épithélium de la rétine, que dans les régions périphériques, où la prolifération est plus active, les cellules ne forment pas de pigment.

Ces faits confirment les vues de CHAMPY, qui avait signalé dès 1913 que la dédifférenciation était fonction de la multiplication des cellules ; il était même allé jusqu'à dire qu'elle se produisait « à l'occasion de la mitose ».

En 1924, EBELING [68] fait entrer cette étude dans une phase plus active ; il abaisse expérimentalement le taux de croissance de cultures d'épithélium iridien par addition de sérum, et constate une activation de la production de pigment.

Mais ce n'est qu'en 1929 que FISCHER et PARKER [83, 84] ont entrepris les premières études directes sur l'antagonisme entre prolifération et différenciation.

Ces auteurs ont mis au point une technique spéciale permettant de régler la vitesse de croissance des cultures et de les faire revenir progressivement à des conditions de nutrition voisines des conditions réalisées par le plasma sanguin pour les cellules adultes *in situ* dans l'organisme. Après quelques repiquages, on obtient ainsi des cultures en *vie ralentie*, où l'activité prolifératrice des cellules est pratiquement suspendue. En cultivant des ostéoblastes de sept à neuf mois, d'une part au moyen de cette technique et d'autre part selon la méthode habituelle en goutte pendante, avec extrait embryonnaire activant la prolifération, FISCHER et PARKER ont constaté que les cultures en voie de prolifération active se composent de cellules nombreuses, tassées les unes contre les autres, tandis que les cultures à croissance ralentie sont beaucoup moins riches en cellules, celles-ci étant séparées par la substance interstitielle beaucoup plus abondante où se différencient, au début, des structures fibrillaires. Par la suite, il s'y constitue une substance dure, hyaline, qui devient cristalline : après un certain temps, une coupe de cette culture ressemble étroitement à une préparation de tissu osseux, bien que la nature de la substance interstitielle reste indéterminée.

Nous voyons donc que, là où la prolifération cesse, la différenciation se produit. Nous pouvons en donner d'autres exemples.

DOLJANSKI [63] (1930) ralentit par une méthode analogue la croissance de cultures pures d'épithélium iridien, qui se trouvent dépigmentées normalement après huit ou dix repiquages. Il constate la production nouvelle de pigment, en abondance, dans toute l'étendue des cultures. Ici, la redifférenciation est spectaculaire : les cultures ralenties deviennent noires, tandis que les cultures-témoins restent blanches.

Des cultures pures d'épithélium hépatique ayant perdu *in vitro* leur glycogène, DOLJANSKI [64] ralentit comme précédemment la croissance de certaines d'entre elles ; les cellules de ces cultures se chargent à nouveau de glycogène, tandis que les témoins en restent dépourvus.

Dans ces diverses expériences, ce qui nous intéresse particulièrement ici est que dans tous les cas où l'on a permis à des cellules animales apparemment dédifférenciées, du fait de leur prolifération *in vitro*, de se redifférencier, elles n'ont jamais reproduit que des cellules du type même dont elles dérivent. Elles n'ont donc pas retrouvé les potentialités multiples des cellules embryonnaires de leur lignée, elles ont au contraire conservé la spécificité du type cellulaire de l'explantat.

Cette notion de spécificité cellulaire irréversible chez les animaux est encore appuyée par l'étude des tissus cancéreux, qui, soit en cultures pures *in vitro*, soit au cours du développement des métastases dans les organismes atteints de tumeurs malignes, gardent toujours leurs propriétés spécifiques et ne manifestent pas de potentialités témoignant d'un retour vers un état plus ou moins embryonnaire (FISCHER [81], LASER [158] etc.).

Les travaux que nous venons de décrire nous ramènent tout naturellement à conclure sur la troisième étape de la dédifférenciation selon CHAMPY. Ces derniers résultats peuvent, en effet, se résumer en disant que cette troisième étape de dédifférenciation n'a jamais encore été confirmée dans les cultures de tissus animaux, car il n'a pas été démontré que des cellules soient revenues au stade blastodermique préépithélial, où elles jouissent de potentialités histogénétiques multiples.

III. — Les phénomènes de dédifférenciation et la régénération.

En dehors des cultures de tissus, le problème de la dédifférenciation cellulaire s'est posé bien des fois à propos de la *régénération animale*. Nous devons donc examiner maintenant l'origine des tissus régénérés à partir d'un fragment d'organisme animal adulte dans les principaux cas de régénération où ils ont été étudiés à ce point de vue. En réalité, cette origine a fait l'objet de beaucoup de travaux, dont une revue détaillée dépasserait largement le cadre de cet historique ; les résultats obtenus sont nombreux, mais trop souvent contradictoires, et nous nous limiterons en nous efforçant de dégager seulement les faits les mieux établis.

Les phénomènes de régénération s'annoncent toujours par la formation, sur la surface de section de l'organisme mutilé, d'une masse de cellules d'aspect indifférencié qui constitue le *blastème de régénération*. Le rôle de ces cellules est plus ou moins important selon le type de régénération. Il est commode, en effet, de distinguer la régénération par *épimorphose*, dans laquelle tous les tissus du régénérat proviennent de la différenciation des cellules du blastème, et la régénération par *morphallaxis*, terme créé par T. MORGAN [187] (1902), au cours de laquelle les tissus du fragment subissent un remaniement plus ou moins profond, et concourent à la reconstitution d'un individu complet.

L'*épimorphose*, c'est-à-dire la régénération à partir de cellules du blastème exclusivement, se rencontre surtout chez les Vertébrés (Batraciens, Reptiles). Les principaux travaux sur l'histologie de ce type de réparation ont été effectués sur les Batraciens urodèles. Ils ont montré que le blastème de régénération se constitue soit par migration de cellules indifférenciées des régions peu éloignées de la surface de régénération, soit par dédifférenciation (structurale) des cellules voisines de cette surface. C'est ce dernier processus qui doit retenir notre attention.

L'origine des tissus régénérés apparaît particulièrement précise dans le cas de la régénération de la queue chez les larves d'Amphibiens, ainsi que chez les Urodèles adultes et chez les Lézards. Les résultats des recherches histologiques de BARFURTH [12] (1891), de PROWAZEK [217] (1902), de NAVILLE [195, 196] (1922-1924), confirmés par les expériences de BOVER [25] (1930) et de GUYÉNOT et PONSE [119] (1930), montrent que chaque tissu du régénérat dérive du tissu correspondant de l'organe mutilé.

Par conséquent, les cellules indifférenciées du blastème proviennent de la dédifférenciation structurale de certaines cellules des divers tissus du moignon, mais ces cellules ont conservé leur spécificité. Par exemple, une cellule provenant de la dédifférenciation morphologique de cellule musculaire ne se différenciera, elle comme sa descendance, qu'en cellules musculaires. Nous retrouvons le même caractère de spécificité que dans les cultures pures de races cellulaires, et rien ne permet de supposer l'accroissement de potentialités caractéristique de la véritable dédifférenciation.

L'étude histologique de la *régénération des membres* chez les Amphibiens Urodèles s'est montrée très infructueuse et n'a pas suffi à elle seule ; de nombreuses expériences ont été nécessaires, mais elles ne permirent qu'une étude plus indirecte, et leurs interprétations sont souvent contradictoires.

Cependant, à la suite des travaux de FRITSCH [87] (1911), de WEISS [283] (1925), de BISCHLER [19-20] (1923-1926) et de BISCHLER et GUYÉNOT [21] (1925), il paraît bien démontré que le squelette se régénère à partir d'éléments conjonctifs non spécialisés provenant du voisinage de la section. Cette réparation n'implique donc pas de dédifférenciation. L'origine des tissus cutanés a été très controversée, mais ces tissus (épiderme, glandes cutanées, derme, cellules pigmentaires) ont fait l'objet d'études très poussées de TAUBE [260 à 263] (1921, 3, 5, 1930), et il semble bien que chacun de ces types cellulaires provienne des types correspondants du fragment ; ce résultat est confirmé par les travaux de BOVET [25] (1930). La régénération des muscles a été très discutée également ; GUYÉNOT et ses collaborateurs ont tenté de montrer que les muscles néoformés proviennent de tissus conjonctifs, mais les travaux de TOWLE [267] (1901) donnent à penser plutôt que ces muscles proviennent des muscles anciens.

En somme, ici encore, les phénomènes de dédifférenciation les plus étendus qui aient été décrits ne comportent encore que la perte transitoire des caractères morphologiques de spécialisation, en rapport avec une reprise d'activité prolifératrice, mais sans retour véritable à l'état embryonnaire multipotent.

Chez les Invertébrés, où les phénomènes de *morphallaxis*, c'est-à-dire de remaniement des divers tissus du fragment, compliquent souvent la régénération typique par épimorphose, de nombreux travaux montrent l'existence de cellules particulières, douées d'une grande activité régénératrice. Il s'agit de cellules indifférenciées, à potentialités multiples, qui ont conservé leurs caractères embryonnaires au cours du développement de ces organismes et lorsque ceux-ci sont parvenus au terme de leur différenciation.

Nous pouvons citer comme faisant partie de cette réserve embryonnaire de l'adulte : les *archéocytes* des Éponges étudiés surtout par K. MÜLLER [190] (1911), par GALTISOFF [88] (1925), ainsi que par WILSON et PENNY [288] (1930) ; les *cellules interstitielles* des Coelentérés décrites par NUSSBAUM en 1887 [204] ; les *cellules-souches* ou *Stammzellen* des auteurs allemands, reconnues chez les Turbellariés par STEVENS [256] (1907), STEINMANN [254-255] (1908, 1926), LANG [156] (1913), BARTSCH [13] (1923) et d'autres encore ; enfin, il faut encore signaler les *neoblastes* des Némertiens, dont le rôle a été élucidé par COE [54] (1929), et les cellules également appelées *neoblastes* qui interviennent chez les Annélides, comme l'ont montré RANDOLPH [218] (1892), HAMMERLING [120-121] (1924), SAYLES [235] (1927), PROBST [216] (1930), pour ne citer que les travaux les plus importants.

La régénération à partir de ces cellules embryonnaires ne fait pas intervenir de phénomènes de dédifférenciation, mais il paraît bien établi que ces éléments n'interviennent pas seuls. Chez les Planaires, en particulier, les phénomènes de dédifférenciation structurale et d'histolyse peuvent être très importants et entraîner la régression complète de certains organes,

tels que les glandes génitales et les organes copulateurs (E. SCHULTZ (1904) [239], VANDEL (1921) [271]. Il en est de même chez les Némertiens, où COE a montré [54] (1929) que le système musculaire se désorganise et se reconstitue complètement. Malheureusement, le devenir de ces éléments dédifférenciés morphologiquement est encore mal connu. Une partie subit l'histolyse et la phagocytose, l'autre concourt certainement à l'édification des tissus du régénérat, mais l'évolution de ces dernières cellules n'a pas été suivie avec précision. Ainsi, les phénomènes de dédifférenciation structurale intracellulaire jouent un rôle de premier plan dans ce type de régénération, mais nous ne trouvons encore aucun fait démontrant une redifférenciation dans un sens différent de la spécialisation primitive.

Remarquons cependant que VANDEL [271] (1921) a observé que les cellules dédifférenciées des organes copulateurs de la Planaire *Polycelis cornuta* régénèrent un pharynx, mais VANDEL ajoute que ces deux types d'organes ont une constitution analogue, et, traitant d'organogenèse et non d'histogenèse, il ne montre pas si les cellules se redifférencient en un type cellulaire nouveau.

Signalons en terminant que J.-A. THOMAS [265] (1941) a observé la dédifférenciation structurale de petits organes d'Echinodermes en survie *in vitro* (pédicellaires, pieds ambulacraires) ; mais ces organes étaient placés dans des conditions ne leur permettant de vivre que quelques jours ; il est donc difficile d'interpréter ces faits et de savoir comment se seraient comportées les cellules morphologiquement dédifférenciées, s'il avait été possible de les conserver vivantes.

IV. — Conclusions.

En conclusion de cette brève revue, nous pouvons retenir que les cellules animales adultes sont susceptibles de perdre, dans des circonstances diverses, les caractères structuraux de leur différenciation en suspendant leur activité fonctionnelle spécifique, mais à notre connaissance aucun travail n'a clairement démontré qu'elles puissent retrouver les potentialités histogénétiques multiples qui caractérisent les cellules embryonnaires indifférenciées. La dédifférenciation cellulaire totale, exigeant le retour à l'état embryonnaire, n'a donc jamais été reconnue chez les animaux.

CHAPITRE II

LA DÉDIFFÉRENCIATION CHEZ LES VÉGÉTAUX

L'étude de la dédifférenciation chez les Animaux a donc donné surtout des résultats négatifs. Tout autre est la dédifférenciation des cellules végétales, car celle-ci n'est pas simplement apparente, elle est réelle. En effet, chez les cellules animales, on a beaucoup suivi les phénomènes de *dédifférenciation structurale*, sans jamais constater la *dédifférenciation cellulaire* véritable. Au contraire, chez les Végétaux, on a pu affirmer avec certitude l'existence de phénomènes de dédifférenciation, en considérant avant tout l'extension des potentialités histogénétiques des cellules, négligées chez les animaux par certains auteurs, tels que CHAMPY. Par contre, on a fort peu étudié l'évolution structurale de ces cellules.

Les travaux des botanistes ayant trait plus ou moins directement à la dédifférenciation sont donc moins décevants que ceux des zoologistes. Chez les Végétaux, de nombreux faits qui montrent l'existence de tels processus ont été décrits, mais généralement à des fins tout autres que l'étude de la dédifférenciation, et souvent sans qu'elle y soit même évoquée. Cependant les phénomènes de dédifférenciation peuvent se produire chez les Végétaux dans des circonstances très diverses.

Nous envisagerons, d'une part, ceux qui prennent naissance spontanément dans les organismes végétaux indemnes, c'est-à-dire au cours de l'*ontogénie normale*, où ils sont fréquents.

D'autre part, nous examinerons ceux qui sont *provoqués expérimentalement*. Les conditions expérimentales entraînant de tels processus sont très nombreuses. D'une manière générale, des phénomènes de dédifférenciation peuvent se produire lorsqu'on crée des perturbations dans le fonctionnement des corrélations organiques, sous l'influence de diverses excitations, ou lorsqu'on interrompt ce fonctionnement.

Nous envisagerons donc successivement la dédifférenciation chez les organismes végétaux entiers, lorsque les corrélations ont été seulement troublées sous l'influence d'excitations internes ou externes, puis celle qui résulte de l'interruption de certaines de ces corrélations par isolement d'organes ou de tissus végétaux.

I. — Les phénomènes de dédifférenciation dans l'ontogénie normale.

Des phénomènes de dédifférenciation se produisent de façon évidente et très apparente au cours du cycle de développement des Cryptogames ; au contraire, ils ne semblent pas avoir été bien reconnus chez les Phanéro-

games. Ils sont en réalité d'une nature différente chez ces dernières, mais ils n'en existent pas moins.



FIG. 1. — Cycle des plastes et des chondriosomes chez *Lemanea*. — H, germination d'une carpospore, formant d'une part des filaments dressés à gros rhodoplastes (I) et, d'autre part, une trame adhérente au support où les rhodoplastes régressent peu à peu (I₁ puis I₂) et se transforment en chondrioconts incolores. — Certaines cellules des filaments dressés prolifèrent pour former des appareils fructifères (J) dont les cellules sexuelles se forment après régression des plastes (A, 2 rameaux femelles surmontés chacun du trichogyne) qui se décolorent, s'aminéissent et se fragmentent. (D'après MANGENOT, 1923.)

Chez les Cryptogames, en effet, il est de règle que les éléments reproducteurs dérivent de cellules différenciées de l'appareil végétatif. Ces éléments, sexués ou asexués, sont de toute façon capables de *proliférer* et d'engendrer les *divers tissus* d'un nouvel organisme. Ils se sont donc *rajeunis* jusqu'à l'état indifférencié des cellules embryonnaires.

Parmi les *Thallophytes*, de tels phénomènes sont particulièrement nets chez les *Algues*, dont les cellules ont des plastas différenciés.

Chez les Algues inférieures (Siphonées, Phéophycées inférieures et Rhodophycées inférieures), G. MANGENOT a montré que la chlorophylle persiste à tous les stades du développement, même dans les cellules sexuelles et dans l'œuf [180] ; les phénomènes de dédifférenciation n'y semblent donc pas très importants, mais ils se traduisent pourtant par la reprise de l'activité prolifératrice, qui caractérise suffisamment un *rajeunissement cellulaire* chez ces Végétaux simplement organisés.

Chez les Algues les plus évoluées, en particulier chez les Rhodophycées supérieures, les travaux de MANGENOT [180] (1922) ont démontré l'existence de phénomènes de dédifférenciation remarquables, portant en particulier sur les plastas, à certains moments du cycle de développement. Par exemple, chez une Némalionacée du genre *Lemanea*, le cycle comporte deux régressions successives des plastas (fig. 1). La première a lieu lorsque certaines cellules des filaments, parmi les plus différenciés, entrent en prolifération pour édifier l'appareil sporifère. Il se forme alors un méristème contenant encore de petits plastas. La seconde régression structurale se produit lorsque des cellules, également différenciées, de la paroi de l'appareil sporifère, forment les gamètes : les plastas perdent leur pigment, s'amincissent, se fragmentent et se transforment en courts chondriocotes. L'œuf ne contient pas de plastas différenciés. Les recherches de MANGENOT, exécutées dans un tout autre but que l'étude de la dédifférenciation, en montrent néanmoins beaucoup d'autres exemples.

Des phénomènes de régressions structurales semblent avoir été observés chez les Bryophytes par ALVARADO [2] (1923) et par MOTTE [188] (1928), mais ils ne permettent pas de tirer de faits certains en ce qui nous concerne.

Par contre, les recherches d'EMBERGER sur les Ptéridophytes [74] (1921) montrent d'indiscutables phénomènes de dédifférenciation qui interviennent normalement au cours de leurs cycles de développement. Chez les Filicacées, les cellules sexuelles se forment aux dépens de cellules chlorophylliennes du prothalle. Les plastas de celles-ci perdent leur amidon et leur chlorophylle et se transforment en éléments indiscernables des chondriosomes, de sorte que le chondriome des gamètes est homogène, ainsi que celui de l'œuf et de l'embryon très jeune. D'autre part, on observe une réduction passagère des vacuoles.

En outre, le sporange des Filicacées dérive d'une cellule épidermique, et l'on sait que les cellules épidermiques sont toujours chlorophylliennes chez ces plantes. EMBERGER décrit alors (fig. 2), dans la cellule-mère primordiale des spores, la régression des chloroplastes, qui perdent leur amidon et leur chlorophylle et reviennent à l'aspect banal des chondriosomes,

avec lesquels ils se confondent tout à fait dans les cellules-mères définitives des spores. L'auteur observe simultanément la même évolution des vacuoles que dans le cas de l'oosphère.

Chez les Équisétacées, EMBERGER décrit, une première régression des plastes lors de la formation des cellules-mères primordiales, puis une redifférenciation lors du passage des cellules-mères définitives aux spores mûres. Chez les Lycopodes enfin, on retrouve des régressions comparables des chloroplastes dans les cellules-mères des spores, tandis que, chez les Sélaginelles, les plastes perdent leur chlo-

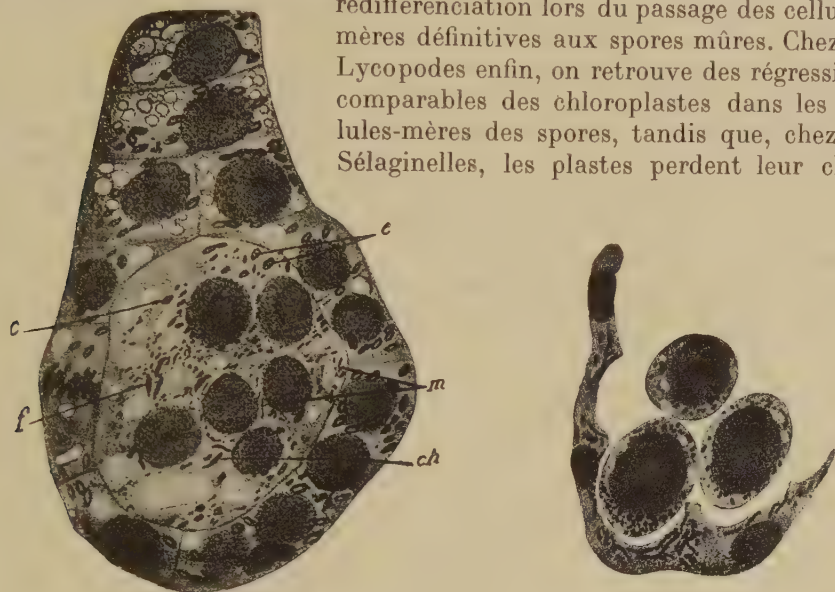


FIG. 2. — A, sporange d'*Asplenium ruta muraria* au moment de la formation des cellules mères primordiales. Résorption de l'amidon des chloroplastes (C) qui deviennent fusiformes (f) et se transforment en gros chondriocentes (ch). — B, cellules mères définitives entourées de l'assise nourricière. Tous les éléments mitochondriaux sont segmentés dans les cellules mères, non dans l'assise nourricière. (D'après EMBERGER, 1921.)

rophyll, mais restent toujours morphologiquement distincts des chondriosomes.

Au contraire de ce qui se passe chez les Cryptogames, les cellules reproductrices des plantes à fleurs ne résultent pas d'une dédifférenciation manifeste, mais dérivent directement de cellules indifférenciées provenant des méristèmes des tiges florifères. Ceci est une conséquence de la *continuité des méristèmes* chez les plantes supérieures. Nous savons, en effet, que tous les tissus méristématiques constituant les diverses régions de croissance des végétaux résultent directement du morcellement du tissu embryonnaire initial de la plantule. Au début de la croissance de l'embryon, ce tissu a d'abord été séparé en deux parties, l'une formant le méristème de la racine, l'autre celui de la gemmule. Au cours de l'allongement de la tige et de la racine, de chacun de ces deux massifs embryonnaires se détachent des groupes de cellules qui formeront les méristèmes des ramifications de ces organes : par exemple, les méristèmes des bourgeons axillaires ne sont autres que des îlots séparés du tissu embryonnaire apical.

Les fleurs sont constituées par des rameaux spécialisés, dérivés du méristème de la tige principale ou de méristèmes axillaires, et les cellules sexuelles qui se constituent sur les pièces fertiles proviennent directement, elles aussi, de ces tissus embryonnaires. Il est certain que des recherches cytologiques, exécutées spécialement en vue d'étudier des phénomènes de dédifférenciation dans les fleurs, seraient cependant souhaitables et révéleraient peut-être plus de complexité que nous n'en soupçonnons ; mais ces processus seraient de toute manière très limités.

Il ne faut donc pas espérer trouver de phénomènes importants de dédifférenciation dans la reproduction sexuée des Phanérogames ; par contre, nous en trouverons dans certains processus de l'organogenèse de ces plantes, où elles se présenteront comme des dérogations au principe de la continuité des méristèmes. Ces processus de dédifférenciation sont probablement très nombreux au cours de la néoformation des bourgeons et des racines, mais ils n'ont pas été étudiés jusqu'à ce jour au point de vue cytologique. Seuls, les processus morphologiques externes et anatomiques ont fait l'objet de recherches.

Par exemple, si chez certaines plantes les *radicelles* naissent à partir d'îlots méristématiques préformés, abandonnés par le méristème subterminal de la racine principale, il ressort des travaux, d'ailleurs contradictoires, de NÆGELI et LEITGE [193] (1868), de REINKE [221] (1871), de JANCZEWSKI [139] (1874), des conclusions trop schématiques de VAN TIEGHEM et DOULIOT [274] (1888), et de la mise au point récente de BERTHON [18] (1942), qu'elles se forment dans presque tous les cas aux dépens de cellules péricycliques, parfois endodermiques, et avec le concours fréquent de cellules corticales (*Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris*, *Lupinus albus*, *Cucurbita pepo*, etc.).

La formation de méristèmes radiculaires à partir de ces cellules plus ou moins évoluées exige leur dédifférenciation. Cependant tous ces travaux sont strictement anatomiques et nous n'avons connaissance d'aucune étude cytologique de cette question.

Il en est de même de la formation des *racines adventives*. En 1846, A. TRÉCUL [268] avait signalé qu'elles naissent de petites « masses celluluses » préformées, qui se trouvent normalement à des phases déterminées et qu'il appelle « bourgeons de racines » ou « racines rudimentaires latentes ». La question fut reprise en 1886 par LEMAIRE [159], qui, sur des bases anatomiques plus précises, a montré que les proéminences décrites par TRÉCUL sont le résultat de cloisonnements déjà nombreux des cellules génératrices initiales.

LEMAIRE montre que les racines adventives peuvent naître du péricycle (*Veronica*, *Lysimachia*, *Ranunculus*, etc...), de l'endoderme et de l'écorce interne (*Lysimachia*, *Callitriche*, et surtout Légumineuses), du cambium intrafasciculaire, c'est-à-dire entre les faisceaux du bois et du liber (*Vinca*, *Viola*...), ou enfin qu'elles peuvent être exogènes, se formant, chez les Crucifères, aux dépens de la deuxième assise de l'écorce, comptée à partir de l'épiderme.

Ainsi, les cellules génératrices ne seraient pas méristématiques, et elles doivent se dédifférencier avant de former les méristèmes radiculaires.

Dans leur important mémoire sur *L'origine des membres endogènes*, VAN TIEGHEM et DOULIOT [274] (1888) font état de conclusions analogues, mais qui semblent trop catégoriques en niant la participation d'autres tissus que le péricycle chez les Phanérogames et l'endoderme chez les Cryptogames vasculaires qu'ils étudient également. Ils reconnaissent néanmoins que les Crucifères et quelques autres plantes peuvent former des racines exogènes spéciales, dites « racines gemmaires », à la base des bourgeons axillaires.

Des phénomènes de dédifférenciation sont également évidents chez certaines plantes qui peuvent former des bourgeons sur leurs racines. A propos de ce bourgeonnement particulier, BEIJERINCK [16] distingue, d'une part, les bourgeons adventifs nés de l'assise subérophellodermique ou des cals de blessures, lorsqu'il s'agit de boutures de racines, et, d'autre part, les bourgeons qui se forment normalement, à partir des tissus primaires de la racine.

Parmi ces derniers se trouvent les bourgeons qui se forment près des extrémités de racines de *Neottia nidus-avis*, décrits par PRILLIEUX [215] (1856), IRMISCH [137] (1870) et WARMING [280] (1874).

HOLLE [133] (1875) a décrit de même l'édification de bourgeons sur les pointes de racines d'*Ophioglossum vulgatum*.

Dans une autre série de notes, WARMING [281] (1881 à 1898) montre que, chez certaines Podostémonacées, des bourgeons naissent à partir des assises externes de l'écorce des racines.

Cette même origine est reconnue par BEIJERINCK [16] (1886) aux pousses qui se forment sur les racines d'*Aristolochia clematitis*, *Linaria vulgaris*, *Orobanché galii*, etc...

Enfin, dans un travail récent, M. C. CARLSON [41] (1938), étudie l'édification de bourgeons près de la pointe de racines de *Pogonia ophioglossoides* (Orchidées). Elle constate d'abord l'accroissement, puis la division des cellules de la couche pilifère (appelée épiderme) et de l'écorce, entraînant la production d'un massif méristématique qui évolue en bourgeon. Cette étude, mieux encore que les précédentes, met clairement en relief, sans toutefois y faire allusion, l'existence de phénomènes de dédifférenciation se produisant *spontanément* au cours du développement de la plante.

A côté de ces circonstances normales, des phénomènes de dédifférenciation peuvent se produire plus ou moins accidentellement dans la nature, dans des cas pathologiques, en particulier chez les cécidies ; mais, pour les étudier commodément, il est avantageux de les provoquer expérimentalement, et il en a été ainsi dans la plupart des travaux ; pour cette raison, nous les grouperons tous dans le paragraphe suivant.

II. — Les phénomènes de dédifférenciation provoqués expérimentalement.

Les interventions expérimentales susceptibles de déclencher des phénomènes de dédifférenciation sont très diverses. Leur mode d'action semble pourtant toujours le même ; elles produisent des perturbations ou des interruptions de corrélations organiques.

Nous consacrerons donc un premier paragraphe aux phénomènes de dédifférenciation *dus à des perturbations* de ces corrélations.

— A propos des perturbations d'*origine interne*, que nous examinerons d'abord, nous considérerons des processus de dédifférenciation dus à l'hybridation.

— D'autre part, de nombreuses perturbations d'*origine externe* peuvent produire de tels processus; nous envisagerons d'abord les *excitations traumatiques*, puis les *excitations physico-chimiques* et enfin celles de nature *parasitaire*.

Nous passerons ensuite aux phénomènes de dédifférenciation provoqués par la suppression de certaines corrélations, suppression due :

— Soit à l'isolement de *fragments d'organes*, ce qui est réalisé dans la *multiplication végétative par bouturage* ;

— Soit à l'isolement de *fragments de tissus*, ce qui est réalisé dans la technique des *cultures de tissus*.

A. — PHÉNOMÈNES DE DÉDIFFÉRENCIATION PROVOQUÉS PAR DES PERTURBATIONS DES CORRÉLATIONS ORGANIQUES.

Nous grouperons dans ce paragraphe les phénomènes de dédifférenciation qui peuvent être produits expérimentalement sur des plantes entières, en les opposant à ceux qui sont dus à l'isolement de fragments d'organismes. Ces phénomènes résultent d'excitations qui modifient l'équilibre établi par les corrélations organiques, sans supprimer leur fonctionnement, tandis que l'isolement de fragments le supprime en partie. En réalité, beaucoup d'expériences que nous citerons ici ont été faites sur des plantes mutilées, mais des contrôles et des témoins ont montré que la mutilation seule n'aurait pas suffi à produire les effets qui nous intéressent et qu'*elle n'est pas leur cause*, comme ce sera le cas dans le paragraphe suivant.

Après avoir donné un exemple de dédifférenciation due à des excitations internes, d'ordre génétique, nous examinerons l'action de diverses excitations d'origine externe.

1. DÉDIFFÉRENCIATIONS DUES A DES EXCITATIONS INTERNES. — *Dédifférenciations consécutives à l'hybridation*. — L'association de plasmas hétérospécifiques peut être la cause d'excitations d'origine intracellulaire produisant la reprise d'activité prolifératrice par des cellules différenciées.

Nous en trouvons un exemple dans les travaux de KOSTOFF [148, 149, 150] (1930, 1934, 1935), qui nous ont fait connaître que certains hybrides de Tabacs forment des excroissances spontanées, ayant l'aspect de tumeurs, c'est-à-dire de proliférations anormales non organisées, alors que les parents n'en forment pas. C'est, entre bien d'autres, le cas de l'hybride *Nicotiana glauca* (♀) × *Nicotiana Langsdorffii* (♂). D'après KOSTOFF, ces tumeurs ne seraient pas microbiennes, mais provoquées par l'association de deux plasmas différents. Chacun aurait tendance à inhiber les manifestations de l'autre, d'où des arrêts et des reprises de croissance et de prolifération plus ou moins désordonnés, déterminant des tumeurs.

Au point de vue cytologique, KOSTOFF insiste sur l'analogie de ces tumeurs avec le *Crown gall* et avec les cancers humains. Il note l'absence de polarité, la formation de très grandes et de très petites cellules, l'existence de plastes très petits et de vacuoles nombreuses, surtout dans les cellules qui prolifèrent. Mais il s'étend surtout sur l'étude du noyau ; il décrit diverses anomalies mitotiques : raccourcissement des chromosomes, avance ou retard de certains chromosomes à l'anaphase, chromatolyse précoce à la métaphase, d'où formation de noyaux accolés, non séparés par une cloison, et constitution de cellules binucléées. D'une manière générale, KOSTOFF constate un ralentissement de la caryocinèse, qui serait dû à la diffusion de substances toxiques à partir de régions qui se nécrosent. En outre, la tétraploïdie, qui, selon l'auteur, ne s'observe jamais dans les tumeurs jeunes, se rencontre autour des régions nécrosées, là où la dynamique de la division est retardée. KOSTOFF considère donc la tétraploïdie comme un phénomène secondaire, et non comme la cause du processus tumoral, ainsi que WINGE [289] (1920) le donnait à penser.

Nous avons résumé ces résultats parce que nous aurons à y revenir à propos de tumeurs chez la Tomate, mais KOSTOFF n'étudie pas particulièrement le processus qui nous intéresse le plus ici. En effet, nous devons surtout retenir notre attention sur le fait que ces tumeurs ont une tendance particulière à former des méristèmes.

L'étude histologique en a été faite par LEVINE [168] en 1937. Cet auteur a montré la formation de très petites cellules douées d'une activité prolifératrice particulière, dans les zones superficielles des excroissances. A partir de ces groupes cellulaires, des « organoïdes » rudimentaires, foliacés et caulinaires, se développent ; il se constitue donc des méristèmes, ce qui suppose des phénomènes de dédifférenciation extrêmement poussée.

LEVINE compare, en outre, ces malformations aux tumeurs de type *Crown-gall* obtenues expérimentalement sur les parents par inoculation de *Phytoplasma tumefaciens*. Il trouve les deux types d'excroissances très différents et conclut, comme KOSTOFF, qu'il ne s'agit pas de *Crown-gall* chez les hybrides, mais de tumeurs spéciales qui ne paraissent pas d'origine bactérienne.

LEVINE signale enfin l'observation de tumeurs analogues sur des pieds de *Pelargonium*.

2. DÉDIFFÉRENCIATIONS DUES A DES EXCITATIONS EXTERNES. — Avec la dédifférenciation provoquée par l'hybridation, qui présente encore l'aspect d'une manifestation *spontanée* de l'organisme des hybrides, nous établissons en quelque sorte une transition entre les phénomènes de l'ontogénie normale et les phénomènes provoqués. Nous examinerons maintenant des phénomènes de dédifférenciation dont la cause expérimentale est beaucoup plus directe et consiste en une excitation d'origine externe.

Nous considérerons successivement les excitations traumatiques, chimiques et parasitaires.

a. *Dédifférenciations provoquées par des traumatismes.* — Il est bien connu que les traumatismes produisent toujours des proliférations cellulaires; c'est de ce fait qu'est née la théorie d'HABERLANDT, admettant la production d'hormones de division au niveau de la blessure. Cette prolifération ne conduit pas, en général, à des phénomènes importants de dédifférenciation, cependant certains traumatismes peuvent suffire à provoquer de tels processus.

C'est ainsi que SCHILBERSZKY [236] (1892) obtient la formation de « méristèmes corticaux » en blessant l'axe hypocotylé de plantules de Haricot par ablation de demi-cylindres.

SCHILLING [237] (1923) blesse des tiges de Lin et de Chanvre en les pliant de façon que la partie supérieure reste pendante. La tige se redresse, et des épaisissements, qui apparaissent au niveau de la blessure, seraient dus, entre autres, à la prolifération de cellules ligneuses, dont les membranes se déignent.

ROSE [227] (1939) obtient d'importantes réactions anatomiques par piqûres simples sur des racines de plantules de Pois. Il décrit des phénomènes de délignification du bois et de dédifférenciation de fibres péricycliques.

Le même auteur [228] (1941) provoque des tumeurs sur la nervure principale de jeunes feuilles de Chou, sous l'effet de piqûres multiples. Il observe la dislocation des tissus de la nervure et la formation de cellules d'aspect méristématique autour du faisceau.

Avant de passer aux excitants chimiques, signalons un cas de dédifférenciation provoquée par une action d'ordre physique : il découle des travaux d'ISABURO NAGAI [192] (1914), qui a observé le déclenchement de processus de régénération et de prolifération à partir de cellules adultes à la suite d'une plasmolyse passagère et après la déplasmolyse complète, sur des prothalles de Fougères.

b. *Dédifférenciations provoquées par des agents chimiques.* — Beaucoup de substances qui excitent la prolifération cellulaire sont susceptibles de produire la dédifférenciation des cellules les plus variées. Nous passerons donc en revue les principaux mémoires où des études histologiques et cytologiques sur l'action de ces substances ont été rapportées.

Nous reviendrons d'abord aux travaux de ROSE [227] (1939), qui, sur les plantules de Pois, réalise des piqûres avec de fins stylets contenant de l'urine ou du venin d'Abeille. Il constate l'hypertrophie des cellules corticales, le morcellement du cylindre central en plusieurs stèles et la dédifférenciation de cellules de l'endoderme, du péicycle et de ses fibres, ainsi que des cellules ligneuses qui se déignent. Ces dernières prennent une paroi mince, homogène, cellulosique, et présentent finalement de gros noyaux très chromatiques. L'auteur prétend même, ce qui semble surprenant, que les « vaisseaux du bois » se transforment en parenchyme vivant.

Plus récemment [229] (1941), par l'emploi de la méthode de son invention, dite du « puceron artificiel », avec du venin d'Abeille dilué, ROSE obtient des tumeurs sur des feuilles de Chou et y décrit des phénomènes de délignification du bois. Des résultats analogues sont obtenus sur la hampe florale de *Pelargonium zonale*, où les faisceaux libéro-ligneux sont remplacés par des tissus « indifférenciés » de type cambial [230] (1914).

Enfin ROSE et BERTHELOT [231] (1939) obtiennent encore des phénomènes de délignification par action du venin de Cobra sur des racines de *Vicia faba*.

Ces travaux font état de transformations régressives extrêmement poussées, mais leur description ne donne pas toutes les garanties souhaitables au point de vue anatomique, et il semblerait utile de reprendre cette étude afin d'y apporter plus de précision quant à la dédifférenciation.

Parmi les autres agents chimiques provoquant des processus de dédifférenciation, c'est l'action des *hétéro-auxines* sur les tissus végétaux qui a été l'objet du plus grand nombre de travaux. Cependant aucun d'eux, à notre connaissance, n'a été entrepris en vue d'étudier ces processus. Dans la plupart, ils sont rapidement mentionnés, ou même l'auteur n'y fait pas allusion dans le texte, mais leur existence peut en être déduite. Nous nous limiterons donc en laissant de côté les nombreuses publications qui ne concernent exclusivement que les propriétés physiologiques des *hétéro-auxines*, en particulier leur action sur le métabolisme, pour ne citer ici que les travaux comprenant une étude histologique ou cytologique ; la plupart d'entre eux ont d'ailleurs été entrepris à des fins physiologiques.

C'est ainsi que FISCHNICH [85] (1935), étudiant l'action de l'acide indole- β -acétique sur la formation des racines adventives sur les tiges, les pétioles et les nervures foliaires de *Coleus*, signale que les racines se forment le long des faisceaux conducteurs. Cette étude a été reprise récemment de manière beaucoup plus précise, sur la même plante, par MOUREAU [189] (1941), qui a montré que les racines se forment aux dépens de petites masses cellulaires qui se constituent au contact du cambium intrafasciculaire et du liber.

Les plantules de Haricot ont été beaucoup employées à l'étude des effets des auxines. En particulier KRAUS, BROWN et HAMNER [153] (1936) ont étudié les réactions histologiques des tiges de jeunes plantules de la variété *Red Kidney Beans*, décapitées au deuxième entre-nœud et dont la surface de section est recouverte d'une pâte constituée par une mixture d'hétéro-auxine à 3 p. 100 dans la lanoline.

Ces auteurs constatent que le parenchyme cortical interne prolifère ; les cellules perdent leur amidon et leurs chloroplastes et deviennent méristématiques. Les cellules de l'endoderme se divisent très activement et donnent également des cellules méristématiques, qui s'agencent en méristèmes de racines. Les parenchyms libériens primaire et secondaire prolifèrent de la même manière et forment une couronne de racines dans la région apicale. D'autres îlots méristématiques peuvent se constituer à partir des rayons médullaires et des cellules situées sous le péricycle. En dehors de ces cellules dont la dédifférenciation est très poussée, d'autres prolifèrent sans retourner au type méristématique primaire ; la moelle et le cambium, par exemple, fournissent des tissus où se différencient des éléments vasculaires plus ou moins anarchiques, ressemblant étroitement aux tissus des tumeurs dues à *Phytomonas* (= *Bacterium*) *tumefaciens*.

La technique d'application de pâtes auxiniques sur des tiges décapitées a été utilisée dans beaucoup d'autres travaux.

HAMMER [123] (1938) opère ainsi sur des plantules de *Mirabilis jalapa* sectionnées à la partie supérieure du premier entre-nœud. Il obtient des tumeurs formées principalement à partir du péricycle, du parenchyme interfasciculaire et du cambium inter-

fasciculaire. Ce sont également ces tissus ou les tissus qui en dérivent qui produisent des racines.

Sur des tiges décapitées de Tomate, BORTHWICK, HAMNER et PARKER [23] (1937) font agir une pâte de lanoline contenant 2 p. 100 d'acide indole- β -acétique.

Les cellules les plus réactives appartiennent à l'endoderme, au parenchyme libérien externe, aux cellules des rayons médullaires adjacentes au parenchyme libérien interne et au liber interne lui-même ; de nombreuses cellules de ces tissus deviennent méristématiques. Ainsi, des racines adventives se forment en deux anneaux, le premier provenant du liber externe et de fragments actifs de l'endoderme, le second provenant du liber interne et des cellules adjacentes des rayons médullaires.

Dans le même ordre de recherches, nous pouvons citer les travaux de F. M. SCOTT [241] (1938) sur des plantules étiolées de Pois, décapitées au troisième entre-nœud et traitées par l'hétéro-auxine sous forme de pâte à la lanoline ou en solution aqueuse.

L'auteur observe la production d'un renflement et de racines, qui naissent d'un « cylindre méristématique » issu des divisions de l'écorce interne, de la « couche amylogène », du péricycle et du parenchyme libérien.

De leur côté, SOLACOLU et D. et M. CONSTANTINESCO [252] (1938) font agir des substances organo-formatives sur des tiges décapitées de *Vicia faba* et observent des mitoses dans tous les tissus, sauf dans la moelle. Le cambium et le péricycle sont particulièrement actifs et produisent des méristèmes.

C'est encore le cambium qui, selon TINCKER [266] (1937), prolifère en donnant des racines lorsqu'on fait agir l'acide α -naphthalène-acétique sur des tiges de *Viburnum Carlesii*, *Ceanothus dentatus*, *Myrtus communis*, etc.

Par contre, les applications latérales et terminales de lanoline contenant de l'acide indole-butyrique sur les racines aériennes de *Cissus sicyoides* produisent, selon N. PFEIFFER [212] (1937), des racines latérales d'origine péricyclique.

C'est, une fois encore, sur le Haricot que HAMNER et KRAUS [124] (1937) ont étudié la production de tumeurs par application de lanoline contenant des hétéro-auxines.

L'application était faite sur des tiges décapitées, ou en anneau latéral sur tiges légèrement grattées, ou encore sur de jeunes gousses, sectionnées ou grattées. Les auteurs constatent l'apparition de racines sur les tumeurs de tiges et de gousses ; elles proviennent du liber et de l'écorce interne des tiges, de l'exocarpe et du mésocarpe des gousses.

Au cours de la même année (1937), HARRISON [128] traite des tiges d'une Amarantacée : *Iresine Lindenii*, par la lanoline à 3 p. 100 d'acide indole- β -acétique, appliquée soit en anneau autour des tiges, soit sur leur section après décapitation. Il obtient des racines provenant du péricycle, du liber et des régions externes des rayons médullaires.

Dans un travail consacré surtout à des études physiologiques, MITCHELL et MARTIN [186] (1937) remarquent la formation abondante de racines à partir du cambium et du liber de plantes étiolées de Haricot traitées latéralement sur le premier entre-nœud par la pâte auxinique.

D'autres expériences ont été faites au moyen de solutions aqueuses d'hétéro-auxine.

C'est ainsi qu'ont opéré BALANSARD et PELLISSIER [7 à 10] (1942). Ces auteurs ont provoqué la formation de racines sur des sections de pétioles ou de limbes foliaires de diverses feuilles (*Begonia*, *Ficus*, *Hedera*, *Phytionia*).

Tous les travaux que nous venons d'énumérer montrent des phénomènes de dédifférenciation par le fait qu'ils décrivent des néoformations de méristèmes radiculaires à partir de tissus différenciés. D'autres mémoires font état de production de bourgeons, qui se forment exclusivement ou en même temps que des racines.

De telles productions s'observent en particulier sur les plantules de Chou, décapitées et traitées selon les techniques précédentes par HOWARD, d'une part [135] (1938) et par GOLDBERG, d'autre part [107] (1938). HOWARD observe la formation de racines, puis de bourgeons, si l'action de l'hormone n'est pas trop prolongée. Ces deux types d'organes naissent de méristèmes qui se constituent au voisinage des faisceaux vasculaires.

De son côté, GOLDBERG décrit la formation de cals et de *primordia* de racines. Ces racines adventives naissent du liber et des rayons médullaires : quelques-unes se forment également dans la moelle, au voisinage immédiat des vaisseaux de première formation. Il se constitue également des pousses feuillées, soit à partir du sommet du cal, soit latéralement, au niveau où sortent des racines adventives ; ces dernières tiges sont issues de la prolifération des assises centrales ou internes de l'écorce, ou encore des rayons médullaires.

Nous voyons donc que ces travaux montrent, sans les signaler, des phénomènes importants de dédifférenciation.

Des phénomènes analogues sont également évidents lors de la production de bourgeons sur des cals développés à la surface des sections de tiges de *Nicotiana*, décapitées et traitées par la pâte auxinique à 1 p. 100 d'acide indole- β -acétique. GREENLEAF, qui rapporte ces résultats [109] (1937) montre également que certains de ces bourgeons sont tétraploïdes et d'autres polyploïdes.

Sur des boutures de racines de *Cochlearia armoracia*, qui d'ailleurs produisent des bourgeons et des racines sans l'intervention d'auxines, LINDNER [172] (1939) constate que l'application de fortes concentrations d'acides indole- β -acétique et naphthylacétique inhibe la production des bourgeons, mais stimule la rhizogénèse ; des racines se forment là où des bourgeons auraient dû naître, et de nombreuses autres s'édifient sur la surface de section morphologiquement inférieure, aux dépens de l'assise subérophellodermique de blessure, du cambium ainsi que des parenchymes libérien et vasculaire. En outre, l'application périphérique des hétéro-auxines provoque la prolifération du parenchyme externe et la formation d'autres racines.

Tout récemment, BALANSARD et PELLISSIER [11] (1942) ont obtenu la naissance de bourgeons sur des sections de feuilles d'*Achimenes grandi-*

folia (Gesnéracées) traitées par une solution aqueuse d'hétéro-auxine.

Enfin il était intéressant d'ajouter à cette liste de travaux portant sur les dicotylédones un exemple de réaction de monocotylédone aux hétéro-auxines. Cet exemple nous est fourni par les recherches de BEAL [14] (1938), qui traite, par la pâte de lanoline à 3 p. 100 d'acide indole- β -acétique, des tiges décapitées de *Lilium Philippinense-formosarum*, *L. longiflorum* et *L. Harrisii*.

Les deux premières espèces produisent des racines adventives sur 2 centimètres au-dessous de la section. Ces racines se forment aux dépens du parenchyme fondamental du cylindre central, au-dessus et à côté des faisceaux cribro-vasculaires du cercle le plus externe. Chez *L. Harrisii*, la réaction est différente; elle consiste en bourgeons néoformés à l'aisselle des deux ou trois feuilles supérieures de la partie restante de la tige. Ces bourgeons proviennent de cellules épidermiques et de cellules corticales externes, qui subissent donc la dédifférenciation. BEAL ajoute qu'il n'a pas observé d'anomalies de la mitose.

L'ensemble de ces travaux sur l'action des hormones de croissance met donc en évidence la possibilité d'obtenir expérimentalement la dédifférenciation de tissus végétaux extrêmement variés. Nous pouvons en déduire que toutes les cellules des tiges, excepté les éléments conducteurs, vaisseaux et tubes criblés, semblent capables de se dédifférencier pour donner naissance à des méristèmes de racines ou de tiges.

En dehors des hétéro-auxines ordinairement utilisées, d'autres substances chimiques ont également permis d'obtenir la prolifération et la dédifférenciation de cellules adultes.

Parmi ces substances, l'acide phényl-crotonique a été utilisé par SOLACOLU, CONSTANTINESCO et ILIESCO [253] (1939) sur des tiges décapitées. Ce composé a déterminé la production de méristèmes d'origine corticale ou plus interne.

L'oxyde de carbone s'est révélé rhizogène sur 27 espèces de plantes étudiées par ZIMMERMAN, CROCKER et HITCHCOCK [295] (1933). Chez 10 d'entre elles en particulier, l'examen microscopique a montré que les jeunes tiges qui sont capables de produire des racines adventives ne contiennent primitivement aucun massif primordial de racine. Ce sont donc des cellules adultes banales qui sont redevenues méristématiques lors de cette néoformation. Chez d'autres, au contraire, l'oxyde de carbone stimule la prolifération de massifs méristématiques préexistants. Chez *Galinsoga*, ce sont les tiges florifères qui forment des racines.

En plus de l'oxyde de carbone, ZIMMERMAN et ses collaborateurs ont montré que divers carbures d'hydrogène non saturés : l'éthylène, l'acétylène, le propène [296] (1933), induisent la formation de racines adventives sur 15 espèces étudiées. Pour certaines (*Hydrangea macrophylla*, *Nicotiana tabacum*), les auteurs ont vérifié que les tiges qui produisent ainsi des racines ne contiennent pas de méristèmes préformés; les méristèmes radiculaires se constituent donc par dédifférenciation de cellules

évoluées. Les auteurs ont même obtenu la formation de racines sur les feuilles de plusieurs espèces.

Les substances qui, chez les animaux, sont douées de *pouvoir cancérigène* peuvent agir également sur les végétaux, bien qu'elles n'y provoquent pas, semble-t-il, de proliférations malignes. Elles produisent le plus souvent des tumeurs inorganisées, bénignes, comme celles que LEVINE a décrites sur des tiges de Tabac traitées par diverses substances, telles que le tryptophane, le thiophénol, le glutathion, etc., appliquées sur des blessures expérimentales [167] (1936). De même BERTHELOT et AMOUREUX [17] (1937) ont obtenu de petites tumeurs sur des cotylédons d'*Helianthus* développés par germination aseptique et traités par le benzopyrène 1-2. LEVINE a bien signalé, dans certaines de ces tumeurs, la présence de petites cellules à caractères méristématiques, mais ces cellules ne montrent pas nettement ces caractères, car elles n'édifient pas d'organes.

D'autres fois, au contraire, il a été possible de produire, au moyen de substances cancérigènes des tumeurs végétales dans lesquelles se constituent des méristèmes fonctionnels de bourgeons ou de racines : ces tumeurs présentent par conséquent des phénomènes de dédifférenciation. Dès son article de 1936, LEVINE [167] signale la formation de structures radiculaires après traitement de tiges blessées de Tabac par du goudron de houille en suspension dans l'éther. Ultérieurement, LEVINE a obtenu des tumeurs sur lesquelles se développent des pousses feuillées en traitant la section de tiges décapitées de *Kalanchoe* par le rouge Scharlach [169] (1939).

D'autre part, des excroissances portant des racines ont été provoquées sur la Tomate (*Lycopersicum esculentum*) et sur *Nicotiana* par KISSER [144] (1939) au moyen de pâtes au goudron de Hêtre, au goudron de houille ou au benzopyrène-1-2. Les racines prennent naissance à partir du parenchyme libérien et des cellules péricycliques à membranes non épaissies. Signalons que DORN (1938) [65] a reconnu la même origine à ces méristèmes lors du traitement des tiges de Tomate par le sable humide ou l'hétéro-auxine.

c. *Dédifférenciations provoquées par des excitations parasitaires.* — D'une manière générale, l'infestation de tissus sains d'un organe végétal par des parasites détermine une excitation qui entraîne une réaction de l'hôte contre ces parasites. L'hôte réagit habituellement en produisant des cellules qui se trouvent interposées entre les parasites et les tissus sains qu'elles doivent protéger. La réaction tissulaire peut se produire à partir de tissus plus ou moins âgés, comme il est facile de le constater à propos de divers types de galles ; il est donc naturel de se demander si la reprise de l'activité prolifératrice de cellules adultes ne détermine pas des processus de dédifférenciation.

Les études histologiques et cytologiques de KOSTOFF et KENDALL [151] (1930) sur

des galles dues à des Nématodes ne montrent pas de formation de cellules à caractères méristématiques, mais plutôt des processus cytologiques de dégénérescence.

Il semble en être ainsi dans beaucoup de galles provoquées par des animaux.

D'une manière générale, les zoocécidies ne fournissent donc pas de phénomènes de dédifférenciation très frappants ni très profonds, mais il n'en est pas de même de certaines excroissances dues à des bactéries, et nous trouverons les cas les plus intéressants dans les tumeurs du type *Crown-gall* provoquées chez de nombreuses plantes par *Phytoplasma tumefaciens*.

C'est surtout à la suite des travaux de SMITH et de ses collaborateurs que l'étude de ces excroissances a pris une grande extension. Ces auteurs s'attachèrent notamment à déterminer la formation de bourgeons et de racines à la surface de certaines tumeurs. En 1917, E.-F. SMITH publia une étude sur les *Crown-galls* présentant ces différenciations qu'il interprète comme homologues des « Embryomes » animaux [247]. Cette interprétation est très contestée, de même que l'idée de SMITH selon laquelle les petits organes ainsi constitués proviendraient de cellules totipotentes de l'hôte. En réalité, l'origine exacte de ces méristèmes ne semble pas avoir été précisée avec rigueur.

Dans certains cas, SMITH obtient des *Crown-galls* feuillés ou porteurs de racines en inoculant le microorganisme à l'aisselle des feuilles, là où se trouvent des méristèmes *dormants*. Il pense que la bactérie réveille l'activité des cellules méristématiques ; cette opinion est réfutée par LEVINE [163] (1919), mais reprise par SMITH [248] (1921). S'il en est bien ainsi, les néoformations de la tumeur ne comportent pas de processus de dédifférenciation.

Un deuxième type de formations de méristèmes sur des tumeurs a été distingué par SMITH en 1916 [246] sur des *Crown-galls* feuillés, provoqués par l'infestation d'organes adultes en des points éloignés de toute cellule méristématique. SMITH admet néanmoins que ce sont des cellules totipotentes embryonnaires qui s'organisent ainsi, mais cette fois des travaux histologiques de LEVINE sur *Bryophyllum calycinum* [163] (1919), puis sur les *Crown-galls* feuillés de Tabac [164] (1923) ont montré que les organes néoformés se constituent aux dépens de cellules de la tumeur, plus ou moins différenciées, et non de cellules saines de l'hôte.

Sur le Tabac, LEVINE distingue nettement les tumeurs nodales, où les organites feuillés résultent du développement anormal d'un bourgeon axillaire, et les tumeurs feuillées produites par piqure dans la nervure médiane des feuilles ou au milieu des entrenœuds. Dans ce dernier type de *Crown-galls*, des cellules à caractères embryonnaires se forment aux dépens de cellules plus différenciées de la tumeur.

Des processus de dédifférenciation se manifestent donc dans ce second genre de tumeurs, auquel appartiennent probablement les tumeurs obtenues par SMITH sur des tiges décapitées de Tabac, de *Pelargonium* et de Ricin [247] (1917).

SMITH et surtout LEVINE se sont attachés particulièrement à l'étude des *Crown-galls* feuillés, mais des tumeurs portant des racines sont connues depuis longtemps.

HEDGCOCK [130] décrit en 1910 des tumeurs du Pommier connues sous le nom de *Hairy roots*. Sur les Rosacées, MUNCIE [191] (1926) observe de même le développement anormal de racines et en distingue deux types sous les termes de *Fibrous hairy roots* et de *Wolly roots*. Ces tumeurs furent identifiées comme *Crown-galls* à la suite des travaux de SIEGLER [242] (1929), de SIEGLER et PIPER [243] (1929) et de NELLIE BROWN [27] (1929). Ce dernier auteur, utilisant une souche de *Phytoplasma tumefaciens* isolée de tumeurs du Pommier, provoque, par inoculation dans des tiges de Chrysanthèmes et de Balsamines, de petites tumeurs couvertes de racines.

Ces divers exemples montrent encore des phénomènes de dédifférenciation, mais, cette fois, ils conduisent à l'édification de méristèmes radiculaires.

Le *Crown-gall* a été l'objet de quelques recherches cytologiques dont nous aurons à parler ultérieurement, mais aucune n'a été orientée vers l'étude des phénomènes de dédifférenciation. L'une des publications les plus importantes sur la cytologie du « cancer végétal », due à LEVINE [165] (1931), mentionne cependant les *Crown-galls* feuillés du Tabac et signale que les mitoses des petites cellules devenues méristématiques sont normales et montrent le nombre diploïde de chromosomes. Sur le chondriome, l'unique note de MILOVIDOV [185] (1930) ne mentionne pas les tumeurs où se forment de petits organes et ne décrit aucune anomalie.

B. — PHÉNOMÈNES DE DÉDIFFÉRENCIATION PROVOQUÉS PAR LA SUPPRESSION DE CORRÉLATIONS ORGANIQUES.

D'une manière générale, les phénomènes de dédifférenciation que nous avons cités dans le paragraphe précédent pouvaient se produire sur des végétaux entiers, lorsqu'une cause perturbatrice venait troubler leur équilibre organique ou le déterminisme de leur croissance. Il nous reste à examiner les processus analogues qui se manifestent lorsqu'on supprime l'action des facteurs de corrélations organiques qui déterminent cet équilibre ou qui règlent l'harmonie de la croissance. Le jeu de ces facteurs est empêché le plus simplement par l'isolement soit de *fragments d'organes* végétaux, comprenant divers tissus, soit de *fragments de tissus* végétaux. Nous envisagerons donc successivement ces deux cas.

1. LA DÉDIFFÉRENCIATION DANS LES FRAGMENTS D'ORGANES VÉGÉTAUX ISOLÉS. — Lorsqu'on isole un fragment d'un organisme végétal, ce fragment a généralement tendance à régénérer les parties manquantes pour reconstituer un organisme complet. Si cette tendance se manifeste réellement, des organes de néoformation se constituent aux dépens d'une partie des cellules du fragment et le complètent, réalisant la forme de *multiplication végétative* bien connue sous le nom de *bouturage*. Il arrive alors que des organes prennent naissance à partir de cellules différenciées ; la construction de leurs méristèmes suppose donc la dédifférenciation de ces cellules.

Avant de passer aux Phanérogames, qui nous retiendront le plus, nous donnerons quelques exemples empruntés aux Cryptogames.

a. *La dédifférenciation dans le bouturage des Cryptogames.* — Chez les Thallophytes inférieures, n'importe quelle cellule saine du thalle est susceptible de se remettre à proliférer, mais il ne semble pas que ces cellules soient réellement différenciées, car elles gardent toujours une certaine indépendance vis-à-vis de leurs voisines ; elles ne sont pas spécialisées, et il n'existe guère de *corrélations intercellulaires* chez ces plantes.

Chez les Algues supérieures, dont les thalles comportent des tissus différenciés, MANGENOT [180] a signalé la prolifération de certains tissus adultes, les moins différenciés, à la suite de blessures.

Chez les Bryophytes, les facultés de régénération et de bouturage à partir de petits fragments sont très grandes.

VÖCHTING [278] (1885) montre qu'un fragment quelconque, même très petit, de thalle de *Marchantia* ou de *Lunularia* peut proliférer et régénérer un thalle à partir d'un petit groupe de cellules. Ces éléments peu spécialisés manifestent donc des potentialités étendues de cellules indifférentes et présentent un rudiment de dédifférenciation.

De même, LANG [157] (1901), puis BORNHAGEN [22] (1926), obtiennent des protonémas d'*Anthoceros lævis* à partir de petits fragments de sporogone : de petits massifs cellulaires prolifèrent activement et produisent des thalles diploïdes.

La régénération de protonémas puis de tiges feuillées polyploïdes a été réussie à partir de nombreux sporogones de Mousses par les frères MARCHAL [182] (1907 à 1911). Mais ces expériences ont été faites à des fins toutes différentes des nôtres et ne précisent pas les processus de dédifférenciation, qui paraissent implicites.

Chez les Ptéridophytes, K. GÖBEL [103] (1877) puis LINSBAUER [175] (1926) ont montré que l'on peut reproduire le prothalle filamenteux des *Gymnogramme* à partir de très petits fragments. Il se forme également de petites cellules proliférantes. LINSBAUER insiste sur le retour à l'état embryonnaire à la suite de « mitoses régressives ».

Toutefois, étant donnée la faible spécialisation des cellules des prothalles de Fougères, la dédifférenciation n'y est pas très marquée. Au contraire, dans le cas des Phanérogames, que nous allons examiner maintenant, nous trouverons des processus de dédifférenciation beaucoup plus importants.

b. *La dédifférenciation dans le bouturage des Phanérogames.* — Le bouturage des divers organes des Phanérogames a fait l'objet de nombreuses études histologiques. Ces travaux ont montré que le développement de nouveaux organes axiaux, racines ou tiges, n'implique pas obligatoirement des phénomènes de dédifférenciation.

Dès 1881, HANSEN [125] distinguait plusieurs catégories de formations adventives : celles qui naissent à partir d'« yeux dormants » (expression

empruntée à HARTIG) et les autres. Parmi celles-ci, certaines, qui sont généralement spontanées, sont localisées en des points définis; d'autres, provoquées expérimentalement, se forment à des endroits qui ne sont pas déterminés à l'avance, mais dépendent des conditions expérimentales. HANSEN ajoute que seules ces dernières naissent à partir de tissus différenciés, mais ces tissus deviennent méristématiques après quelque temps de développement.

En réalité, on sait aujourd'hui que beaucoup de formations adventives provoquées sont localisées comme les formations spontanées et dérivent comme elles du fonctionnement de méristèmes dormants. Nous distinguerons donc plus simplement, en nous limitant au cas des boutures :

1° Les néoformations localisées en des points déterminés, provenant d'ilots cellulaires méristématiques préformés, détachés du méristème principal au cours de la croissance de l'organe et dont le bouturage ne fait que réveiller l'activité. Leur production n'est pas liée à un processus de dédifférenciation ;

2° Les néoformations dont la localisation dépend, le plus souvent, des circonstances expérimentales et qui sont dues à la constitution de méristèmes nouveaux par dédifférenciation de cellules plus ou moins différenciées.

Nous classerons les travaux mentionnés ci-dessous d'après le type de bouturage, et nous donnerons des exemples de ces deux modes de prolifération à propos de chaque type où ils se présenteront.

La dédifférenciation dans les boutures de racines. — Les premières recherches histologiques importantes sur les boutures de racines semblent être celles de TRÉCUL [269] publiées en 1847. L'auteur étudie l'origine des bourgeons adventifs dans des boutures de racines de *Maclura aurantiaca*, *Tecoma radicans*, *Paulownia imperialis* et *Ailanthus glandulosa*, réalisées souvent à partir de très petits fragments. Chez la dernière espèce, par exemple, il observe la naissance de bourgeons soit sur la surface de section, au niveau de la « couche génératrice » (il désigne ainsi le cambium), soit à l'intérieur du fragment et encore sur la couche génératrice, soit enfin dans la région externe de l'écorce. Ce dernier cas exige des phénomènes de dédifférenciation particulièrement importants.

Parmi les travaux plus récents, retenons ceux de GRAHAM et STEWART [408] (1927), qui décrivent le développement de bourgeons à partir du cambium dans les boutures de racines d'*Anchusa italica*.

PRIESTLEY et SWINGLE [214] (1929) étudient l'édification de bourgeons sur des boutures de racines de *Crambe maritima*, aux dépens de l'assise subéro-phellodermique.

HAMMOND [122] (1936) montre que les tissus du cylindre central d'une racine sectionnée de *Podostemon* peuvent régénérer un méristème racinaire apical. Ce résultat est en accord avec ceux des recherches plus générales de SIMON [244] (1904), de NĚMEC [199] (1905), de GAUTHERET [89] (1935), sur la régénération des méristèmes racinaires. NĚMEC, en parti-

culier, insiste sur le « retour à l'état embryonnaire », qui n'affecte que les cellules du plérôme à l'exclusion du périblème et du dermatogène.

A propos des boutures de tubercule de Chicorée à café, KWASNIKOV [155] (1937) signale que les bourgeons se forment surtout aux dépens des cellules du cambium. Nous avons montré, d'ailleurs, que tous les tissus de cette racine peuvent bourgeonner.

LINDNER [172] (1939) observe la formation de racines et de bourgeons sur les segments de racines de Raifort (*Cochlearia armoracia*). Les bourgeons se développent dans les régions morphologiquement supérieures des segments, là où les traces radiculaires arrivent au contact de l'assise subéro-phellodermique. Les racines se forment dans les régions inférieures, à partir de cellules dérivées des parenchymes péricyclique, libérien et vasculaire, ainsi que du cambium et de l'assise subéro-phellodermique.

Enfin, avant de passer aux boutures de tiges, signalons le travail minutieux de CROOKS [56] (1933). L'auteur décapite des plantules de Lin au milieu de l'axe hypocotylé et montre que la partie supérieure restante forme des bourgeons d'origine épidermique et des racines provenant de cellules du péricycle, du liber et du parenchyme médullaire. Si l'on utilise le fragment supérieur comme bouture, il produit à sa base des racines de même origine que les précédentes.

Toutes les néoformations étudiées dans ces travaux supposent évidemment le retour de cellules évoluées à l'état embryonnaire méristématique, mais ceux-ci ne comportent pas de recherches cytologiques.

La dédifférenciation dans les boutures de tiges. — Les bourgeons qui se développent dans les boutures de tiges sont généralement préformés, et leurs méristèmes sont des fragments détachés du méristème apical, lors de la croissance des entre-nœuds. Il ne se produit donc pas dans ce cas de phénomènes de dédifférenciation. La question se pose au contraire en ce qui concerne la formation des racines adventives, qui permet le bouturage.

Nous rencontrerons ici les deux modes de prolifération dont nous avons parlé plus haut, c'est-à-dire à partir de massifs méristématiques préformés, ou par dédifférenciation de cellules évoluées.

Ainsi, en 1924, VAN DER LEK [272] a montré que les racines qui naissent aux nœuds dans les boutures de *Salix*, *Populus*, *Ribes nigrum* et *Vitis vinifera*, ainsi que certaines des racines qui se forment dans les entre-nœuds sont produites par le développement de massifs méristématiques préformés. Ces massifs sont associés au cambium et se trouvent à l'extrémité de rayons médullaires ; ils semblent se constituer aux dépens de cellules des cordons procambiaux qui resteraient plus ou moins méristématiques.

Par contre, SWINGLE [259] (1927) a suivi la formation de « germes radiculaires » très analogues aux massifs préformés de VAN DER LEK dans des tiges de Pommier. Ces éléments se forment dans l'anneau cambial et supposent une régression de ses cellules.

Dans ces deux cas, le déclenchement de la prolifération au moment du bouturage ne provoque pas de dédifférenciation, mais, dans les tiges de Pommier, celle-ci est produite plus tôt ; elle est d'ailleurs peu profonde.

Dans beaucoup d'autres boutures, les phénomènes de dédifférenciation de cellules adultes sont au contraire très nets et très importants. Ces cellules peuvent appartenir à des tissus divers ; nous en donnerons quelques exemples.

En 1926, G. TAYLOR [264] montre que, dans les boutures d'*Acanthus montanus*, les méristèmes radiculaires proviennent du cambium.

Dans les boutures de *Clematis*, E. P. SMITH [251] (1928) décrit la formation de racines à partir du cambium des faisceaux cribro-vasculaires et des rayons médullaires.

Il en est de même chez *Veronica beccabunga* où PRIESTLEY et SWINGLE [214] (1929), après avoir recherché l'origine des racines adventives dans le périicycle, ont reconnu qu'elles dérivent du cambium.

Chez *Coleus Blumei*, c'est à partir d'une ou de plusieurs cellules adjacentes au périicycle, entre les faisceaux conducteurs, que se produisent les racines, selon CARLSON [40] (1929), tandis que, chez *Portulaca oleracea*, CONNARD et ZIMMERMAN [55] (1931) ont montré qu'elles proviennent du cambium interfasciculaire, donc des rayons médullaires, mais parfois aussi de la moelle et même des faisceaux. En général, le périicycle concourt aussi à leur formation en produisant leurs initiales corticales.

SANDISON [234] (1934) distingue dans les boutures de *Lonicera japonica* deux sortes de racines, les unes développées aux nœuds à partir d'initiales préexistantes, correspondent aux *morphological roots* de VAN DER LEK ; les autres se formant à la base, à partir du cambium, correspondent aux *wound roots* de VAN DER LEK : ces dernières seules se forment à la suite d'une dédifférenciation.

Les recherches d'A. SMITH [245] (1936) sur les boutures de tiges de *Begonia* montrent que là également les racines ont pour origine des cellules du cambium interfasciculaire ; il s'y associe plus tard des cellules du liber et du périicycle.

C'est encore du périicycle et des assises sous-jacentes que naissent les racines adventives des boutures d'*Iresine Lindenii* étudiées par HARRISON [128] (1937).

D'autre part, les recherches de HAMMOND [122] (1936) ont montré que les tissus du cylindre central de fragments de tiges de *Podostemon* régénèrent à leur extrémité proximale un méristème radiculaire, tandis qu'à l'extrémité distale des cellules des faisceaux vasculaires se dédifférencient et produisent des bourgeons.

Dans ces exemples, la rhizogenèse implique donc la dédifférenciation de cellules du cylindre central des tiges. Dans d'autres cas, des cellules corticales peuvent se dédifférencier. Ce fait ressort clairement des résultats de WILSON [287] (1927). Cet auteur suit la formation de racines sur des rameaux de *Roripa amphibia*, aux dépens de cellules épidermiques et corticales qui se mettent à proliférer activement. Rappelons que LEMAIRE (1886) puis VAN TIEGHEM et DOULIOT (1888) ont signalé la formation normale de racines exogènes chez les Crucifères.

Nous pouvons également conclure à la dédifférenciation de cellules

corticales des travaux de FLORENCE WOLFE [291] (1934) montrant que les racines adventives de *Cotoneaster Dammeri* naissent de cellules parenchymateuses situées à l'aisselle des feuilles.

La dédifférenciation dans les boutures de feuilles. — La multiplication d'un végétal supérieur à partir d'une feuille isolée ou d'un fragment de feuille a longtemps gardé la réputation d'un phénomène peu banal. Pour cette raison, elle a fréquemment attiré l'attention des savants, et de nombreux travaux ont été consacrés à son étude, de sorte que les modalités du bourgeonnement épiphyllé semblent bien connues aujourd'hui au point de vue anatomique. Ces études montrent plus clairement que chez les tiges l'existence des deux catégories de proliférations, les unes naissant d'îlots méristématiques préformés, donc sans le concours de processus de dédifférenciation, les autres se produisant aux dépens de cellules adultes qui se dédifférencient.

Dès 1907, FIGDOR [78] distingue parmi les Gesnéracées des plantes dont les feuilles se bouturent grâce à des méristèmes dormants, et d'autres sans qu'il existe de tels méristèmes.

Parmi les premières se trouve le genre *Streptocarpus* (Gesnéracées), où GÖBEL [105] (1908) montre l'existence d'un méristème à la base des pétioles de *S. Holstii*.

Les recherches histologiques de BRAUN [26] (1918), de HOWE [136] (1931), de NAYLOR [197] (1932) et de YARBROUGH [292] (1932) sur la Crassulacée *Bryophyllum calycinum* démontrent que les bourgeons naissent d'îlots méristématiques primaires, détachés du méristème de la jeune feuille au cours de sa croissance, et subsistant tels quels dans les échancures des dents de la feuille adulte. Howe précise que les bourgeons sont exogènes et les racines endogènes. D'après NAYLOR, les ébauches de plantes entières se trouvent déjà dans la feuille adulte. Lors du bouturage, ce sont ces ébauches méristématiques préformées qui se développent.

Chez les *Kalanchoe Daigremontiana* (JOHNSON [141], 1934), *tubiflora* (CLAMP [53], 1934) et *rotundifolia* (STOUDT [258], 1938), la gemmiparité se produit à partir d'un méristème situé à la base du pétiole, qui différencie deux *primordia* de feuilles, puis reste dormant tant que la feuille n'est pas séparée de la plante.

De même, les feuilles détachées d'une autre Crassulacée du genre *Brynesia* régénèrent des bourgeons par réveil d'un méristème dormant situé à leur base (STOUDT [257], 1934).

Des exemples analogues se rencontrent encore chez certaines Saxifragacées des genres *Heuchera*, *Mitella*, *Tolmiea*. J. A. YARBROUGH [293] (1936) a étudié en particulier la feuille de *Tolmiea Menziesii* et a montré que la régénération se fait aux dépens d'un méristème dérivé de celui qui a construit la feuille.

Dans les trois genres de Crassulacées, chez *Streptocarpus* et chez les Saxifragacées précédentes, le bouturage des feuilles ne provoque pas de phénomènes de dédifférenciation. Il n'en est pas de même pour d'autres Crassulacées et Gesnéracées très étudiées, ni pour de nombreuses plantes appartenant à d'autres familles. Chez ces dernières, les feuilles adultes ne renferment pas normalement de tissus méristématiques ; ceux-ci se constituent après l'isolement de l'organe, par dédifférenciation de cellules spécialisées des tissus de la feuille.

Parmi les Crassulacées de cette dernière catégorie, se trouve le genre

Sedum, où YARBROUGH [294] (1936) a montré que les feuilles produisent des bourgeons et des racines à partir de méristèmes endogènes formés dans le cal cicatriciel. Il signale la disparition des chloroplastes et la dédifférenciation de tissus parenchymateux à grandes vacuoles.

McVEIGH [183] (1938) étudie, sur les boutures de feuilles de *Crassula multicava*, la néoformation de méristèmes caulinaires et radiculaires qui naissent tous de l'épiderme. L'auteur signale la disparition des chloroplastes dans le mésophylle sous-jacent et conclut qu'une étude cytologique serait souhaitable.

Parmi les Gesnéracées, les recherches histologiques de NAYLOR et JOHNSON [198] (1937) ont montré la naissance de méristèmes de bourgeons et de racines à partir de cellules adultes chez *Saintpaulia ionantha*. Les bourgeons sont d'origine épidermique, tandis que les racines se forment aux dépens du mésophylle.

Chez les Bégoniacées, le bouturage bien connu des feuilles de *Begonia rex* a été étudié au point de vue histologique par HARTSEMA [129] en 1926. L'auteur montre que les bourgeons se forment à partir de l'épiderme, tandis que les racines ont une origine interne, comme dans le cas précédent.

HARTSEMA décrit longuement la formation de courants cytoplasmiques, de trabécules qui se tendent à travers la vacuole et de déplacements du noyau comme prélude à la première mitose. Il note aussi un accroissement de la quantité de cytoplasme, mais ajoute qu'il n'a pas observé de division de la vacuole par les écheveaux cytoplasmiques trabéculaires. Ceci prouve qu'il n'a étudié que les tout premiers stades de la dédifférenciation ; nous verrons, en effet, que ce morcellement de la vacuole existe, mais se produit ultérieurement.

PRÉVOT [213] (1939) confirme les résultats de HARTSEMA.

La multiplication végétative à partir des feuilles de *Drosera*, signalée par NAUDIN dès 1840 [194], a fait également l'objet de plusieurs études histologiques déjà anciennes de DIXON [62] (1901), de ROBINSON [225] (1909), de SALISBURY [233] (1915). Plus récemment, VICKERY (1933) [275] a montré que, chez *Drosera peltata* et *D. auriculata*, les bourgeons épiphylls se forment aux dépens de cellules adultes, largement vacuolisées, de l'épiderme et du mésophylle, dans les régions situées à la base d'un poil glandulaire. Ces cellules deviennent méristématiques ; elles gardent un moment leur grande vacuole, puis s'enrichissent en cytoplasme.

Chez les Scrofulariacées, WINKLER [290] (1903) a signalé l'activité des cellules épidermiques dans le bourgeonnement épiphyll de *Torenia asiatica*. Il en serait de même chez *Linaria vulgaris*.

Enfin, le bourgeonnement épiphyll des Liliacées a fait l'objet de plusieurs études histologiques. Dès 1902, LONAY [177] remarque l'origine épidermique des bulbilles formées sur les feuilles sectionnées d'*Ornithogalum caudatum*.

CHOUARD [50] (1931) observe le rôle important de l'épiderme dans le bourgeonnement des feuilles de plusieurs Scillées, dont *Endymion nutans*,

E. italicus, *Hyacinthella*, etc., et en publie une étude particulière, sur *Endymion lingulatus*, où il montre l'origine épidermique des bulbilles [51] (1933).

Dans une étude très précise enfin, WALKER [279] (1940) montre que les feuilles écailleuses isolées du bulbe de *Lilium candidum* et *L. longiflorum* donnent naissance à des bulbilles à la base de leur face interne, par prolifération de cellules du mésophylle, voisines de la surface, qui se divisent activement et deviennent méristématiques. L'épiderme contribue à leur achèvement. Des racines naissent plus tard aux dépens de cellules plus internes. Les deux types de méristèmes sont donc endogènes : c'est l'opposé de ce qui a lieu chez *Crassula*.

Nous voyons que, dans tous ces exemples, le bouturage s'opère avec le concours de processus de différenciation de cellules adultes. Le plus souvent, les méristèmes caulinaires naissent à partir de cellules épidermiques et les méristèmes radiculaires à partir de cellules internes, mais le fait est loin d'être général, les bourgeons sont parfois endogènes et les racines exogènes. Il faut donc reconnaître leurs origines respectives dans chaque cas particulier.

2. LA DÉDIFFÉRENCIATION DANS LES FRAGMENTS DE TISSUS VÉGÉTAUX ISOLÉS : LA DÉDIFFÉRENCIATION DANS LES CULTURES DE TISSUS VÉGÉTAUX.

— Nous avons vu, à propos des boutures de racines que, dès 1847, TRÉCUL avait obtenu des bourgeons adventifs sur des petits fragments de racines, chez *Paulownia imperialis* par exemple. En 1902, GÆBEL [104] a signalé le grand pouvoir de régénération des fragments de racines de beaucoup de Composées, ainsi que la possibilité d'obtenir une plante entière de *Corydalis solida* en cultivant de petits fragments du tubercule de cette plante.

Il y avait encore bien loin du bouturage de ces petits fragments aux véritables cultures de tissus, et ce n'est qu'en 1939 que GAUTHERET fut en mesure d'annoncer l'obtention d'une culture indéfinie de tissus végétaux [93]. La réalisation des cultures de tissus véritables est donc de date très récente, mais la réussite entière de GAUTHERET fut précédée de nombreux essais de plusieurs chercheurs, et leurs publications laissaient déjà prévoir que la culture des tissus végétaux constituerait une technique de choix pour l'étude des phénomènes de différenciation cellulaire. Elles montrent en effet la formation fréquente de méristèmes de bourgeons ou de racines, à partir de cellules différenciées.

Ainsi, en 1937, NOBÉCOURT [201], cultivant en série des tissus de tubercule de Carotte, signale la naissance d'une racine dans l'une de ses cultures, à partir de la région supérieure d'un mamelon de tissu néoformé. Plus tard, le même auteur [202] (1939) étudie, au point de vue physiologique, les radicules qui se forment en grand nombre dans les cultures de tissus de Carotte sous l'influence de fortes doses d'hétéroauxine.

Ces développements de méristèmes radiculaires dans les tissus de tubercules adultes rendaient déjà très probable l'existence de phénomènes de différenciation ; cette existence est confirmée par les observations

d'ORSOS [206] (1938) sur le tubercule de Chou-Rave. Cet auteur entretient des fragments aseptiques de tubercule sur un milieu nutritif gélosé (solution de WHITE) et constate la formation de pousses et de racines, aux dépens des tissus entourant des ramifications de faisceaux conducteurs. ORSOS précise qu'il ne s'agit pas que du cambium, mais également d'autres cellules du faisceau encore capables de division.

Toutefois, c'est dans les travaux de GAUTHERET que nous trouvons les indications les plus précises sur les possibilités de dédifférenciation cellulaire en cultures de tissus. Dès 1938, cultivant des tranches isolées de tubercules de Carotte, GAUTHERET [92] indique l'apparition de radicules aux extrémités des *rayons rhizogènes*, c'est-à-dire des bases d'anciennes radicules du tubercule.

En 1939, l'auteur étudie l'influence de la concentration du milieu en acide indole- β -acétique sur les tissus du tubercule de Carotte cultivés *in vitro* [94]. Il montre qu'à une certaine concentration ce corps présente un *pouvoir rhizogène* qui nous intéresse tout spécialement ici. GAUTHERET précise en effet que de nombreuses racines naissent à un certain niveau, à partir de cellules du parenchyme libérien et des canaux sécréteurs, et par *dédifférenciation* de ces cellules.

Quelques mois plus tard [95] (1939), reprenant les techniques de NOBÉCOURT sur les cultures de tissus de Carotte en milieu riche en hétéro-auxine, GAUTHERET retrouve la production abondante de racines dans ces conditions.

Cette rhizogenèse provoquée par l'hétéroauxine est encore alléguée par GAUTHERET en [96] 1940 à propos de recherches expérimentales sur la polarité des tissus du tubercule de Carotte.

Tous les travaux dont nous venons de parler montrent la possibilité de dédifférenciation *in vitro* avec formations de méristèmes radiculaires ; d'autres recherches ont montré que des méristèmes de tiges peuvent également prendre naissance en cultures de tissus.

GAUTHERET [97] (1940) a obtenu en effet un développement abondant de bourgeons sur des tranches de racines d'Endives, et l'auteur a précisé que ces bourgeons se forment aux dépens de cellules du parenchyme libérien [98] (1941). Dans une autre note [99] (1941), il est fait allusion de nouveau à ce bourgeonnement qui constitue un obstacle à la culture de tissus véritable et que l'auteur inhibe par addition d'acide naphthalène-acétique dans le milieu de culture.

De son côté, Nobécourt [203] (1942) décrit la formation de pousses feuillées et de racines dans des cultures de tissus de Scorsonère et de pousses feuillées seules dans des cultures de tissus de Salsifis.

Plus récemment encore, GAUTHERET [101] (1942) publie une étude sur le bourgeonnement des tissus végétaux en culture. S'adressant aux cultures de tissu cambial d'*Ulmus campestris*, il décrit l'édification d'ébauches méristématiques à la surface des tissus néoformés. L'auteur insiste d'abord sur les deux phases du bourgeonnement et précise que la première consiste en une édification des méristèmes par *dédifférenciation* de cellules plus ou

moins évoluées. En outre, il fait une brève étude cytologique de cette phase et constate surtout la régression de la grande vacuole et sa transformation en grains ou en filaments caractéristiques des cellules méristématiques (fig. 3). Il s'agit d'ailleurs de modifications relativement légères, les cellules initiales étant peu différenciées.

Nous voyons donc que la culture *in vitro* des tissus végétaux constitue une technique particulièrement intéressante pour produire expérimentale-

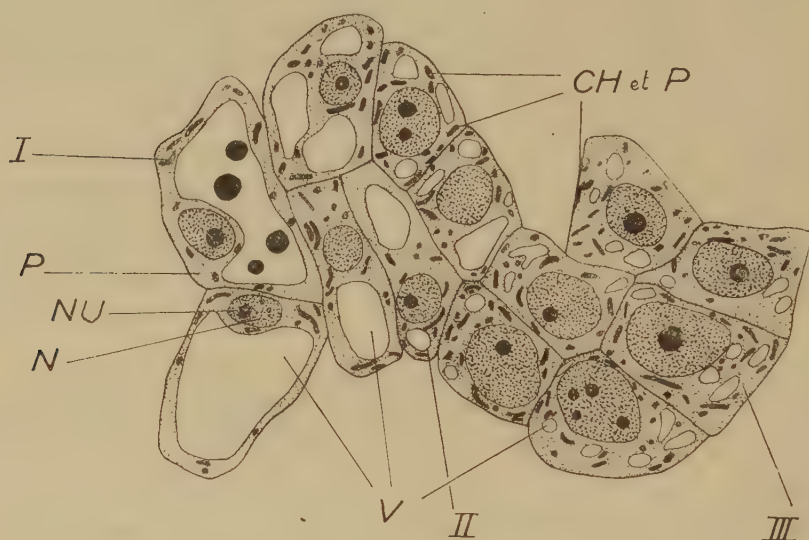


FIG. 3. — Dédifférenciation au cours de la néoformation des bourgeons d'Orme. — I, cellule primitive ; II, cellule en voie de dédifférenciation ; III, cellule dédifférenciée. Le chondriome ne se modifie pas sensiblement (chondriosomes CH et plastes P non différenciés). Les vacuoles (V) régressent et le volume du noyau (N) s'accroît. (D'après GAUTHERET, 1942.)

ment des phénomènes de dédifférenciation, alors que les cultures de tissus animaux n'ont pas été satisfaisantes à ce point de vue. Nous avons fait largement usage de cette méthode au cours de notre travail.

III. — Conclusions.

La revue bibliographique précédente nous a montré, d'une part, que les phénomènes de dédifférenciation ne sont pas rares chez les végétaux et se produisent normalement au cours du développement ontogénique de beaucoup d'espèces et, d'autre part, que les circonstances expérimentales par lesquelles on peut provoquer de tels phénomènes sont extrêmement diverses. Ces circonstances sont résumées par le tableau ci-contre :

Tout cet ensemble constitue un vaste champ de recherches et, dans notre travail, nous avons dû nous limiter à l'étude cytologique de quelques cas, aussi différents que possible. A vrai dire, nous n'étions pas entravés dans

Tableau des principales circonstances dans lesquelles les cellules végétales différenciées peuvent se dédifférencier pour donner naissance à des cellules à caractères méristématiques.

I. — DÉDIFFÉRENCIATIONS SPONTANÉES SE PRODUISANT AU COURS DE L'ONTOGÈSE NORMALE.			
1° Chez les Cryptogames.	Formation des spores....		Cellules du thalle des Algues. Cellules épidermiques des Ptéridophytes.
	Formation des gamètes.		Cellules du thalle des Algues. Cellules du prothalle des Ptéridophytes.
2° Chez les Phanérogames.....	Développement des radicules		Cellules de l'endoderme, du péricycle, du liber, etc., de beaucoup de racines de Dicotylédones.
	Développement des racines adventives		Cellules diverses de l'écorce, du péricycle, du liber, du cambium, etc., de nombreuses tiges.
II. — DÉDIFFÉRENCIATIONS PROVOQUÉES EXPÉRIMENTALEMENT.			
A. — Par perturbation des corrélations organiques.			
1° Excitations d'origine interne : Hybridation.			Diverses cellules corticales (Hybrides de <i>Nicotiana</i>).
2° Excitations d'origine externe.....	a. Traumatismes.....		Toutes les cellules de la racine (?). Toutes les cellules des nervures foliaires (?). Cellules corticales d'axes hypocotylés.
	b. Substances chimiques ...	Venins.	Toutes les cellules de la racine (?)
		Hétéroauxines. Oxyde de carbone. Carbures non saturés. Substances cancérogènes.	Toutes les cellules vivantes des tiges et des racines, sauf celles dont la différenciation entraîne une dégénérescence du protoplasme.
		c. Excitations parasitaires.	
B. — Par suppression des corrélations organiques.			
1° Dans les fragments d'organes : Bouturage	a. de thalles :		Cellules de thalles et de prothalles de diverses Cryptogames.
	b de racines :		Presque toutes les cellules vivantes, non frappées de dégénérescence, des Phanérogames.
	c. de tiges :		
	d. de feuilles :		
2° Dans les fragments de tissus....	Culture <i>in vitro</i> des tissus végétaux :		Cellules de parenchymes libérien et vasculaire, de phelloderme et de cambiums, de diverses Dicotylédones.

notre choix par les études antérieures. Nous avons vu que les seuls travaux importants de cytologie qui se soient, directement ou non, occupés de la dédifférenciation sont ceux de MANGENOT [180] sur les Algues, d'EMBERGER [74] sur les Cryptogames vasculaires et de GAUTHERET [101] sur le bourgeonnement du tissu cambial d'Orme, cultivé *in vitro*.

En somme, bien que les cas de dédifférenciation soient nombreux, et que le phénomène ait été souvent pressenti, le problème de la dédifférenciation fut simplement posé, et jusqu'ici aucun chercheur ne s'est attaché à son étude.

Les types de dédifférenciation correspondant aux exemples que nous avons retenus n'avaient encore fait l'objet d'aucune étude cytologique. Nous espérons donc avoir fait œuvre utile, bien que modeste, en apportant quelques renseignements sur ce domaine peu exploré.

Le choix de nos exemples, que nous avons énumérés dans le plan de notre mémoire, prend tout son sens à la suite de ces considérations qui montrent leur dispersion dans les diverses catégories où des processus de dédifférenciation se manifestent. Nous commencerons par un cas de dédifférenciation très répandu, qui se rencontre soit dans le développement normal de la plante, soit dans les boutures de tiges : il s'agit de la formation de *racines adventives* chez la Tomate (*Lycopersicum esculentum*).

Cet exemple nous ayant amené au bouturage, nous étudierons ensuite les phénomènes de dédifférenciation dans un cas de *boutures de feuilles* où se forment des bulbilles et des racines, chez *Brimeura amethystina* L. (Liliacées).

Notre troisième exemple fera intervenir l'*excitation chimique* de l'hétéro-auxine et sera emprunté aux *cultures de tissus* : nous suivrons la dédifférenciation des cellules du parenchyme libérien de Carotte (*Daucus carota*), lors de la production de racines *in vitro*.

Toujours *en cultures de tissus*, nous envisagerons ensuite les phénomènes de bourgeonnement aux dépens des tissus de la racine de Chicorée à café, *Cichorium intybus*, variété.

Enfin, nous étudierons les processus de dédifférenciation qui interviennent lors du développement des *tumeurs* du type *Crown-gall* produites expérimentalement sur la Tomate.

TECHNIQUES CYTOLOGIQUES GÉNÉRALES

L'étude des éléments figurés de la cellule ne peut être faite au moyen de la simple observation microscopique directe, sans le concours des techniques de fixation, d'inclusion, de microtomie et de coloration. Ces techniques ont l'inconvénient d'altérer diversement les différents organites intracellulaires ; leur emploi nécessite donc beaucoup de prudence et oblige à contrôler dans chaque cas les résultats qu'elles fournissent.

Nous nous sommes toujours conformé, dans nos recherches, aux principes établis par A. GUILLIERMOND et largement exposés dans son *Introduction à l'étude de la cytologie* [117] (1938). Dans la plupart des cas, nous avons utilisé des fixateurs dont l'action sur les éléments étudiés avait été éprouvée au cours de nombreux travaux de cytologie générale ; toutefois, nous avons régulièrement employé la *méthode des fixations et des colorations convergentes*, contrôlée par des *observations* et des *colorations vitales*.

Nous résumerons dans ce qui suit les principales techniques employées généralement pendant tout le cours de nos recherches, pour la fixation, l'imprégnation et l'inclusion, la microtomie et la coloration des coupes. Nous indiquerons ensuite la méthode suivant laquelle nous avons effectué les préparations destinées à l'observation vitale ; nous résumerons les principales techniques cytochimiques dont nous avons fait usage, et nous indiquerons enfin les méthodes quantitatives qu'il nous a été possible d'utiliser.

I. — Technique de fixation.

Afin de ne pas prolonger la durée de fixation et surtout celle de l'inclusion qu'il est bon de restreindre le plus possible, nous nous sommes toujours efforcé de réduire au moins l'une des dimensions des objets à moins de 2 millimètres. Dans la plupart des cas, nous avons fixé simultanément par trois mélanges fixateurs au moins : les mélanges de HELLY, de REGAUD et de MEVES ; en outre, nous avons employé souvent le mélange de NAVACHINE.

Les pièces plongées dans le fixateur ont été aussitôt soumises à l'action du vide partiel fourni par une trompe à eau. Cette opération raréfie les gaz des méats et des lacunes et facilite la pénétration du fixateur. En outre, elle suffit le plus souvent à empêcher les objets de flotter.

FIXATION PAR LE MÉLANGE DE HELLY. — Le fixateur était préparé au moment de l'emploi en mélangeant les solutions ci-contre dans les rapports indiqués.

Solution A :

Bichromate de potassium.....	2 ^{er} ,5
Bichlorure de mercure	5 grammes.
Sulfate neutre de sodium	1 gramme.
Eau distillée.....	100 centimètres cubes; 9 volumes.

Solution B :

Formol neutre à 35-40 p. 100.....	: 1 volume.
-----------------------------------	-------------

Nous neutralisons le formol du commerce, toujours acide, par une solution étendue de soude, jusqu'à virage à l'orangé d'une solution de rouge neutre. Le liquide se conserve ensuite en présence de carbonate de calcium.

Nous avons employé ce fixateur surtout pour les études histologiques et caryologiques ; nous fixions alors pendant dix-huit à vingt-quatre heures, puis nous lavions à l'eau courante pendant le même temps.

Dans d'autres cas, nous avons utilisé le mélange de HELLY selon la technique de PARAT pour l'étude du chondriome. La durée de fixation est réduite alors à cinq heures, et elle est suivie de chromisation par une solution saturée de bichromate de potassium, à l'étuve à 40° pendant quarante-huit heures. Le lavage à l'eau courante se fait comme précédemment. Cette méthode fournit, après coloration à la fuchsine d'ALTMANN, des préparations d'une grande netteté, mais nous avons parfois constaté une tendance au gonflement et au raccourcissement des chondriosomes ; elle nécessite donc un contrôle rigoureux. Nous avons obtenu cependant de bons résultats avec les tissus de Chicorée à café et d'Endive.

FIXATION PAR LE MÉLANGE DE NAVACHINE. — Nous avons utilisé la formule suivante :

Solution aqueuse d'acide chromique à 1 p. 100.....	10 volumes.
Acide acétique cristallisable.....	1 volume.
Formol à 35 p. 100.....	4 volumes.

Après douze à vingt heures de fixation, nous lavions pendant un temps égal.

Nous avons employé ce fixateur à l'étude des caryocinèses, en particulier pour les numérations chromosomiques, en raison de l'intensité des colorations qu'il permet avec l'hématoxyline ou la fuchsine (méthode de FEULGEN).

FIXATION PAR LE MÉLANGE DE REGAUD. — Nous avons utilisé la méthode IV de REGAUD [219], recommandée par GUILLIERMOND. Elle consiste à fixer pendant quatre jours par le mélange :

Solution aqueuse de bichromate de potassium à 3 p. 100.....	4 volumes.
Formol neutre à 35-40 p. 100.....	1 volume.

Il est prudent de changer le fixateur chaque jour, et en tout cas s'il précipite. Les pièces sont ensuite *postchromisées*, sans lavage, dans la solution de bichromate à 3 p. 100, pendant huit jours, à froid, puis lavées à l'eau courante pendant douze à vingt-quatre heures.

C'est ce fixateur qui nous a rendu les plus grands services pour l'étude du chondriome et des plastes ; la méthode de REGAUD est réputée la plus

sûre, et nous n'avons jamais considéré comme définitifs les résultats obtenus avec d'autres mélanges et non confirmés par cette méthode. Dans la plupart des cas, cette fixation a été suivie de coloration par l'hématoxyline de REGAUD ; toutefois, nous avons été amené à l'associer également à la coloration par la fuchsine d'ALTMANN.

Nous avons encore employé le mélange de REGAUD pour des recherches caryologiques, et nous avons constaté à notre tour qu'il est supérieur au fixateur de HELLY pour la conservation de la structure fine des noyaux quiescents. La durée de fixation est réduite dans ce cas à vingt-quatre heures et est suivie de lavage, sans postchromisation. Cette technique comporte la coloration par la méthode de FEULGEN.

FIXATION PAR LE MÉLANGE DE MEVES. — Ce fixateur, à base de tétroxyde d'osmium (acide osmique), complète heureusement ceux de HELLY et de REGAUD. Sa composition est la suivante :

Solution aqueuse d'acide chromique à 1 p. 100.....	15 volumes.
Solution aqueuse de tétroxyde d'osmium à 2 p. 100.....	4 —

Ce mélange a l'inconvénient d'être très peu pénétrant, de sorte qu'il donne des résultats inconstants, mais, lorsque le matériel se prête bien à sa pénétration, il constitue l'un des fixateurs les plus universels et les plus remarquables. Il peut donner de bonnes fixations nucléaires, et il conserve, en outre, la plupart des éléments cytoplasmiques, en particulier les granulations lipidiques, les chondriosomes et les plastes.

Nous avons remédié de façon satisfaisante aux difficultés de pénétration en fixant les objets débités en lames d'épaisseur inférieure ou égale à un millimètre. Nous fixions pendant dix-huit à vingt-quatre heures et nous postchromisions pendant huit jours à froid. Les pièces ainsi traitées se prêtent bien à la coloration par la fuchsine d'ALTMANN et par l'hématoxyline ferrique de REGAUD. L'acide osmique colore souvent les éléments lipidiques en brun.

Ce fixateur fournit généralement de bonnes préparations mitochondriales ; toutefois, nous avons constaté que, chez certaines plantes (Tomate par exemple), il a tendance à raccourcir et à épaissir les chondriosomes.

II. — Techniques d'imprégnation.

Nous n'insisterons pas sur ces techniques, trop classiques. Nous rappellerons seulement qu'il est nécessaire de déshydrater les pièces très progressivement après le lavage, en commençant par un alcool à 40°. Il est également recommandé de réduire au strict minimum les durées d'imprégnation au toluène et à la paraffine : toutes ces opérations doivent être accomplies dans la même journée.

Toutefois, il est indispensable d'effectuer avec ménagements le passage du toluène à la paraffine. Pour cela, nous employons d'abord un bain renfermant au moins autant de toluène que de paraffine, à peine fondue, où les pièces, plongées froides, se recouvrent d'une pellicule solide qui empêche la pénétration trop rapide de la paraffine. Ce bain

est porté lentement à 40°. Les pièces, à cette température, sont plongées ensuite dans le premier bain de paraffine à sa température de fusion (56°) ; elles s'entourent alors d'un nouveau manchon protecteur de paraffine solide.

Ces précautions évitent la contraction des tissus et le plissement des membranes, d'autant plus à craindre que les cellules ont de plus grandes vacuoles. Le parenchyme libérien des tubercules de Carotte est particulièrement fragile à cet égard.

III. — Techniques de microtomie.

Les études cytologiques nécessitent des coupes dont l'épaisseur varie avec la structure des cellules. Les cellules différenciées, dont presque tout

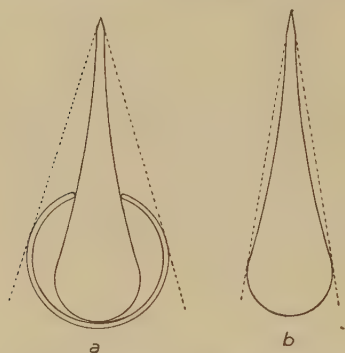


FIG. 4. — Angle dièdre du rasoir Spencer aiguisé avec ou sans pièce dorsale. — *a*, section du rasoir muni de la pièce dorsale ; *b*, section du rasoir sans pièce dorsale.

le volume est occupé par une grande vacuole et qui ne renferment qu'une pellicule de cytoplasme pariétal, doivent être étudiées sur des coupes épaisses (8 à 15 μ) ; elles sont d'ailleurs très difficiles à obtenir sur des coupes fines, car elles se plissent et se déchirent sous le rasoir, ce qui n'arrive pas aux cellules à cytoplasme abondant. Celles-ci ne peuvent être étudiées que sur des coupes très minces (1 à 4 μ). La plupart des objets que nous avons eus à couper présentaient ces deux sortes de cellules, et il était indispensable de les obtenir en bon état sur les mêmes coupes.

Nous n'y sommes parvenu qu'après beaucoup d'essais, en modifiant le rasoir du microtome SPENCER dont nous nous servons. Nous avons réussi, en repassant ce rasoir sans la pièce dorsale affectée à cet usage (fig. 4, *p*), à obtenir un angle dièdre beaucoup plus aigu, qui tasse considérablement moins les coupes, en particulier pour les épaisseurs inférieures à 5 μ . Ce rasoir a l'inconvénient d'être très fragile, et il est long et difficile à repasser. Nous utilisons pour cela une pierre dont la surface est depuis longtemps recouverte d'huile épaisse. L'emploi du cuir est naturellement prohibé.

IV. — Techniques de coloration.

Nous avons utilisé principalement les colorations suivantes :

COLORATION PAR L'HÉMATOXYLINE FERRIQUE :

Solution d'hématoxyline cristallisée à 10 p. 100 dans			
l'alcool à 96°	10	centimètres	cubes.
Glycérine	10	—	—
Eau distillée	80	—	—

La solution doit être vieillie au moins deux mois. Après un mordantage de vingt-quatre heures dans la solution d'alun de fer et d'ammonium à 5 p. 100, les coupes sont colorées vingt-quatre heures, puis différenciées par l'alun à 1 ou 2 p. 100, en suivant sous le microscope. On monte ensuite au baume du Canada.

Nous avons employé cette coloration après tous les fixateurs.

COLORATION PAR LA FUCHSINE D'ALTMANN :

On colore pendant quelques minutes sur platine chauffante, à 60°-80°, par la solution suivante :

Fuchsine acide	2 grammes.
Eau anilinée saturée, vieillie au moins six mois	10 centimètres cubes.

Le colorant se prépare au moment de l'emploi. Il se conserve quelques jours. Utilisée après fixation aux mélanges de MEVES, de HELLY modifié selon PARAT et de REGAUD, cette technique nous a été d'un grand secours pour l'étude des plastes.

La coloration est suivie de différenciation par la solution d'aurantia à 0,5 p. 100 dans l'alcool à 70°. La rétrogradation par cette solution est rapide après les fixations au MEVES et au REGAUD ; elle est plus lente après l'emploi du mélange de HELLY-PARAT, qui fournit les meilleurs résultats.

Nous avons complété quelquefois la préparation par une coloration nucléaire au bleu de toluidine, selon la méthode de KÜLL, mais ce complément fut sans grand intérêt pour nos recherches.

RÉACTION NUCLÉALE DE FEULGEN :

Devenue classique, cette coloration est spécifique de la chromatine. Elle consiste à hydrolyser, par l'acide chlorhydrique, l'acide thymonucléique de la chromatine, de façon à libérer un sucre, le *ribose*, dont la fonction aldéhyde permet de recolorer la fuchsine décolorée par l'anhydride sulfureux naissant (réactif de SCHIFF). Les techniques de préparation des réactifs et de coloration sont les suivantes :

Réactifs : Acide chlorhydrique normal :

Acide chlorhydrique pur, densité : 1,19	82°c,5
Eau distillée	1 000 centimètres cubes.

Réactif de SCHIFF :

Fuchsine acide	1 gramme.
Eau bouillante	200 centimètres cubes.
Acide chlorhydrique normal	20 — —
Métabisulfite de sodium anhydre	1 gramme.

Verser l'eau bouillante sur la fuchsine broyée dans un mortier et dissoudre. Laisser refroidir jusqu'à 50°, puis filtrer. Ajouter la solution normale d'acide chlorhydrique, puis laisser refroidir jusqu'à 25°. Ajouter alors le bisulfite. Laisser la solution pendant vingt-quatre heures à l'obscurité : elle se décolore et prend une teinte jaune-paille. Cette solution est bonne tant qu'elle reste jaune.

Solution de lavage. — A préparer au moment de l'emploi.

Métabisulfite de sodium anhydre	1 gramme.
Eau de source	210 centimètres cubes.
Solution normale d'acide chlorhydrique	10 — —

Technique de coloration. — 1° *Hydrolyse.* — Traiter les coupes par :

- Solution normale d'acide chlorhydrique, à froid : une minute ;
- Solution normale d'acide chlorhydrique, à chaud (60°) : quatre à quinze minutes ;
- Laver rapidement dans l'acide froid neuf, puis dans l'eau distillée.

2° *Coloration* dans le réactif de SCHIFF : une à six heures selon les pièces.

3° *Lavages* :

a. A la solution de lavage ci-dessus ;

b. A l'eau distillée.

Colorer ensuite le fond au-vert Lumière et monter au baume sans xylol.

Nous avons employé cette coloration après les fixateurs de REGAUD (sans postchromisation), de HELLY et de NAVACHINE.

COLORATION AU VIOLET DE GENTIANE :

Nous l'avons utilisée après fixation au mélange de NAVACHINE pour les études de mitoses. La technique est la suivante :

1° Coloration dans une solution aqueuse à 1 p. 100 de violet de gentiane, bouillie et filtrée ; trois à dix minutes suivant l'âge du colorant ;

2° Lavage à l'eau ;

3° Passage dans la solution iodo-iodurée suivante (30 à 40 secondes) :

Alcool à 80°.....	80 centimètres cubes.
Iode.....	1 gramme.
Iodure de potassium	1 —

4° Passage dans l'alcool à 95° : 2 secondes ;

5° Passage dans l'alcool absolu : 4 secondes ;

6° Différenciation à l'essence de girofle (quelques secondes) ;

7° Passage dans trois xylols ou toluènes successifs : 15 minutes en tout ;

8° Montage au baume du Canada.

V. — Observations vitales.

L'observation des cellules vivantes a été indispensable dans tous les exemples que nous avons étudiés, bien que, dans chacun d'eux, les conditions de telles observations fussent loin d'être idéales. Il était impossible, en effet, d'observer les objets directement, sans en faire des préparations qui peuvent toujours soulever des critiques de principe. Dans tous les cas, nous avons été obligé d'effectuer des coupes au rasoir, à main levée. Il est certain que cette méthode lèse de nombreuses cellules autres que celles qui sont sectionnées. Nous avons soin de ne pas couper trop fin et de laver les coupes par une immersion immédiate dans le liquide de RINGER. Pour reconnaître que les cellules étudiées n'étaient pas altérées, nous y recherchions les caractères reconnus spéciaux aux cellules vivantes et saines : mouvements de cyclose réguliers, faible réfringence du noyau, chondriosomes non vésiculisés, etc. Nous prolongions en outre l'observation de manière à suivre, après notre étude, l'altération et la mort de la cellule, caractérisée par l'apparition des mouvements browniens, les perturbations de la cyclose, la cavulation des chondriosomes, la floculation du cytoplasme, qui prend un aspect granuleux, et du noyau qui devient plus réfringent. Dans d'autres cas, nous avons vérifié que la cellule était bien vivante en la colorant vitalement au rouge neutre ou au vert Janus, en solutions étendues dans le liquide de RINGER. La coloration était suivie sous le microscope.

La *coloration vitale* des vacuoles, au bleu brillant de crésyl et surtout au rouge neutre, nous a servi à étudier la concentration des solutions vacuolaires. Elles ont également confirmé et précisé l'évolution morphologique du système vacuolaire telle qu'on peut la déduire de l'observation des coupes de pièces fixées.

La coloration du chondriome au vert Janus nous a maintes fois permis de érifier avec précision des études vitales parfois délicates.

VI. — Techniques cytochimiques.

Nous n'avons fait d'études cytochimiques poussées qu'incidemment, ces recherches sortant du cadre de ce mémoire. Par contre, nous avons fait un usage constant des réactions microchimiques les plus couramment employées. Nous résumerons les principales.

MÉTHODE DE GUILLIERMOND pour la coloration de l'amidon dans les préparations mitochondriales.

Elle consiste à traiter les coupes, colorées à l'hématoxyline, après les avoir légèrement différenciées à l'alun, par la solution iodo-iodurée suivante :

Iode.....	4 grammes.
Iodure de potassium.....	6 —
Eau distillée.....	100 centimètres cubes.

Après quelques minutes, on lave et on déshydrate *très rapidement* à l'alcool absolu, puis on monte au baume. L'amidon est ainsi coloré en jaune, parfois brunâtre, passant souvent au bleu violet.

RECHERCHE DES LIPIDES. — Nous avons eu souvent à caractériser la présence de corps lipidiques. Nous avons employé le plus couramment la coloration par le soudan III et le noir soudan B en solutions saturées dans l'alcool à 70° ou 90°. Toutefois, la solubilité dans l'alcool des corps étudiés ne nous a pas toujours permis de les colorer ainsi ; nous avons employé alors le *bleu d'indophénol naissant* ou mélange nadi. Pour cela on prépare les deux solutions suivantes :

Solution A :

Potasse caustique.....	0gr,2
Naphtol.....	0gr,5
Eau distillée.....	100 centimètres cubes.

On chauffe légèrement pour dissoudre.

Solution B :

Chlorhydrate de diméthylparaphénylène diamine.....	0gr,5
Eau distillée.....	100 grammes.

On effectue ensuite le mélange :

Solution A.....	3 centimètres cubes.
Solution B.....	3 — —
Eau distillée.....	20 — —

Ce mélange colore les tanins en outre des lipides, mais en leur donnant une teinte bleu-indigo, différente de la teinte bleu violacé que prennent les lipides.

Pour préciser la nature des lipides, nous avons suivi la marche conseillée par LISON [176]. En particulier, nous avons eu à employer l'observation en lumière polarisée et les réactions suivantes :

Réaction de Liebermann. — Nous l'avons faite selon la technique préconisée par A. SCHULTZE :

- 1° Fixer au formol, couper par congélation ;
- 2° Monter la coupe sur lame porte-objet et l'essorer soigneusement au papier buvard ;
- 3° Couvrir la coupe d'une goutte du mélange acide sulfurique pur + anhydride acétique : $\tilde{a}\tilde{a}$;
- 4° Poser la lamelle et examiner dans le réactif.

Par cette méthode, les stérides se colorent en bleu, violet ou rouge, teintes virant ensuite au vert ; ce virage seul est caractéristique.

Remarquons que cette méthode permet d'employer un réactif aussi violent que l'acide sulfurique concentré sans détruire rapidement les cadres cellulaires. La préparation peut rester lisible pendant plusieurs heures.

Réaction de Smith-Dietrich. — Cette réaction permet de caractériser les lipides phosphorés (lécithides en particulier). Le traitement des coupes, faites à main levée ou à congélation, est le suivant :

- 1° Immersion dans la solution de bichromate de potassium à 5 p. 100 pendant un à deux jours, à 60°.

2° Lavage à fond.

- 3° Coloration, pendant quatre à cinq heures, à 37°, par l'hématoxyline de KULTSCHITZKY :

Solution d'hématoxyline à 10 p. 100 dans l'alcool

absolu	10 centimètres cubes.
Acide acétique à 2 p. 100	90 — —

Le liquide doit être vieilli plusieurs mois.

4° Lavage à l'eau.

- 5° Différenciation, pendant dix à douze heures, dans le mélange de WEIGERT :

Borate de sodium	2 grammes.
Ferricyanure de potassium	2 ^{gr} ,5
Eau distillée	100 centimètres cubes.

6° Lavage à l'eau.

7° Montage au sirop d'APATHY.

Les phospholipides sont colorés en *noir franc* par cette méthode.

Pour les détails concernant l'explication chimique de ces réactions, nous renvoyons à l'ouvrage de LISON [176].

DÉTECTION DES TANINS :

Très solubles dans l'alcool, moins solubles dans l'acétone, les tanins se colorent en

brun vif par le bichromate de potassium en solution aqueuse et prennent une teinte noirâtre sous l'action des solutions de sels ferriques. Nous avons employé ces solutions à des concentrations de 5, 10 et 20 p. 100.

Nous avons vu, d'autre part, que le bleu d'indophénol leur confère une teinte bleu-indigo très vive.

Nous avons employé incidemment d'autres réactions microchimiques simples que nous signalerons au cours de notre exposé.

VII. — Études quantitatives.

Les mesures cytologiques ont été faites par comparaison avec un micro-mètre-objet divisé en centièmes de millimètre et observé, comme les cellules à mesurer, au moyen de l'objectif ZEISS apochromat de grossissement propre $\times 90$ et des oculaires compensés ZEISS de grossissement propre $\times 15$, montés sur un système binoculaire. L'un de ces oculaires portait un micromètre oculaire. Dans ces conditions, 44 divisions du micro-mètre oculaire correspondent à une longueur de 50 μ . L'intervalle entre deux traits représente donc 1 μ ,13.

Ces mensurations nous ont surtout servi à des évaluations volumétriques. Pour chaque type de cellules, nous n'avons mesuré que des éléments de taille moyenne, qu'il est facile de repérer. Pour chaque dimension, nous avons fait plusieurs mesures et nous en avons pris la moyenne arithmétique.

Le calcul des volumes ne peut être fait qu'approximativement, en les assimilant à des formes géométriques. Nous nous sommes astreints à ne considérer que des cellules pouvant être assimilées sans trop d'erreur à des parallélépipèdes, formes initiales les plus fréquentes des cellules dérivées de méristèmes secondaires, et de beaucoup d'autres.

Quant aux noyaux, nous les avons considérés comme des ellipsoïdes, passant parfois à la forme sphérique, qui en est un cas particulier.

Nous avons donc établi pour chaque type cellulaire les valeurs moyennes des trois dimensions : longueur L , largeur l et hauteur h . Le volume est alors $V = L l h$. De même, pour les noyaux, nous avons évalué les valeurs moyennes des trois axes : 2 a , 2 b , 2 c , et le volume est $v = \frac{4}{3} \pi abc$. Étant données les approximations géométriques précédentes, nous avons simplement pris $\pi = 3$ et la formule devient $v = 4 abc$.

L'intérêt de ces mesures étant d'évaluer le rapport nucléoplasmique, il était nécessaire d'éliminer le volume vacuolaire, surtout dans les cellules adultes initiales, qui ne contiennent qu'une pellicule cytoplasmique pariétale.

Si ϵ est l'épaisseur moyenne de cette pellicule, en considérant qu'elle tapisse les six faces, égales deux à deux, du parallélépipède membranaire, son volume est approximativement de :

$$2 \epsilon Ll + 2 \epsilon Lh + 2 \epsilon lh \quad \text{ou} \quad 2 \epsilon (Ll + Lh + lh).$$

En ajoutant le volume nucléaire au volume cytoplasmique, on obtient le volume total de la substance vivante de la cellule, soit :

$$\mathcal{V} = 2 \epsilon (Ll + Lh + lh) + 4 (a + \epsilon) (b + \epsilon) (c + \epsilon).$$

Le rapport $\frac{v}{V}$ fournit alors l'ordre de grandeur du rapport nucléo-plasmique des cellules initiales. Dans les cellules méristématiques, le volume vacuolaire est très réduit ; ce rapport se confond donc approximativement avec le rapport $\frac{v}{V}$ du volume nucléaire au volume total de la cellule.

Cette technique nous fournira donc l'ordre de grandeur du rapport nucléoplasmique au début et à la fin de la dédifférenciation.

VIII. — Techniques d'illustration.

Les études cytologiques nécessitant l'emploi de forts grossissements, la microphotographie ne fournit qu'exceptionnellement, à notre avis, des images satisfaisantes, surtout par suite de l'absence de profondeur de champ du microscope. Nous y avons donc renoncé et nous l'avons remplacée par le dessin.

La photographie écartée, il nous restait l'emploi de la chambre claire ; toutefois cet appareil ne permet pas d'observer et de reproduire certains détails cytologiques avec le maximum de netteté et de précision qu'il est indispensable de se garantir. Afin de ne pas troubler les proportions des détails observés, nous esquissions les principaux contours au moyen de la chambre claire, employée toujours dans les mêmes conditions de grossissement et de projection, et nous terminions le dessin à main levée, d'après l'observation directe.

Lors de la mise en planches, les dessins reproduits sans changement d'échelle étaient calqués, les autres étaient reproduits au pantographe. Nous pensons avoir apporté ainsi à l'illustration une précision aussi rigoureuse et une clarté beaucoup plus grande que celles que nous aurait permises la méthode microphotographique.

PREMIÈRE PARTIE

LES PHÉNOMÈNES DE DÉDIFFÉRENCIATION DANS LA FORMATION DES RACINES ADVENTIVES SUR LES TIGES DE TOMATE (*LYCOPERSICUM ESCULENTUM* MILLER, SOLANACÉES)

CHAPITRE PREMIER

INTRODUCTION ET TECHNIQUES

I. — Techniques expérimentales.

L'historique nous a montré que de nombreux travaux ont été faits sur l'histologie de la formation des racines adventives chez les Dicotylédones. Ces racines peuvent naître soit au cours du développement des plantes normales, soit lors du bouturage des tiges, soit sous l'action de substances chimiques diverses : eau, hétéro-auxines, carbures, oxyde de carbone, substances cancérigènes. Certains de ces travaux ont été effectués sur la Tomate (BORTHWICK, HAMNER et PARKER, DORN, KISSER), mais aucun ne comporte de cytologie. Nous avons également choisi cette plante pour étudier la formation des racines adventives que ses tiges produisent très facilement. Ce matériel nous fournit un exemple de phénomènes de dédifférenciation pouvant se produire sur des plantes entières, soit spontanément, soit par l'intervention expérimentale.

En effet, il suffit de laisser croître des plants de Tomate en atmosphère humide pour obtenir des ébauches de racines adventives, dont les plus proches du sol se développent rapidement. Nous verrons que la formation de ces points végétatifs nécessite des processus de dédifférenciation. Il s'en forme surtout à la base de la tige, mais d'autres naissent sur une assez grande longueur, lorsque cette tige est couchée ou suffisamment inclinée vers le sol.

Il s'agit bien là de formations spontanées, mais cette technique passive présente des inconvénients matériels. Le principal est que les ébauches se produisent dans les régions inférieures des tiges, où la lignification est très avancée. Ce fait rend difficile l'emploi des méthodes cytologiques, car les coupes fines se font très mal dans les tissus lignifiés. En outre, il est malaisé de saisir les premiers stades de la dédifférenciation. Pour faciliter

l'étude, nous avons donc été amené à *provoquer expérimentalement* la naissance des racines adventives. Nous avons employé deux techniques :

Tout d'abord, afin de nous éloigner le moins possible des conditions naturelles, nous avons opéré sur des plantes entières. Nous entourions simplement de jeunes entre-nœuds d'un manchon de coton hydrophile qui était maintenu humide en permanence. Ce manchon n'entravait pas le développement de la plante, et l'entre-nœud traité en particulier poursuivait sa croissance en longueur et en épaisseur comme chez les plantes témoins. Par ce moyen, nous obtenions des racines adventives le long de cet entre-nœud, en trois semaines environ (fig. 5).

D'autre part, nous avons utilisé la technique plus brutale du bouturage. Il suffit de sectionner les tiges dans les régions encore jeunes et de placer les bases des rameaux iso-



FIG. 5. — Entre-nœud de la tige de Tomato portant des racines adventives provoquées par traitement au coton humide. ($\times 2$.)



FIG. 6. — Base d'une bouture de tige de Tomato portant des racines adventives, disposées en files longitudinales. (Grandeur naturelle.)

lés dans un cristalliseur contenant de l'eau de source pour obtenir en sept jours une profusion de jeunes racines qui se développent rapidement sur une longueur de 5 à 10 centimètres au-dessus de la section (fig. 6).

II. — Techniques cytologiques.

En plus des fixations de témoins, nous avons fait des fixations échelonnées dans le temps jusqu'à l'apparition des jeunes racines. Les pièces étaient débitées en secteurs prismatiques aigus ou en lames peu épaisses, permettant la pénétration rapide du fixateur. Pour chaque série, nous avons employé simultanément les mélanges de NAVACHINE, de HELLY, de REGAUD et de MEVES.

Les études anatomiques ont été faites en majorité sur des coupes transversales, mais les coupes longitudinales ont été de beaucoup les plus favorables aux recherches histologiques et cytologiques. Ces dernières sont, en effet, parallèles aux plus grandes dimensions des cellules et, d'autre part, les ébauches adventives, disposées en lignes longitudinales, se trouvent groupées sur ces coupes, alors que les coupes transversales les dispersent.

L'observation des cellules normales de la tige nécessite des coupes de 7 à 10 μ d'épaisseur. Pour obtenir de bonnes préparations des stades de la dédifférenciation et observer des cellules de plus en plus petites et à cytoplasme abondant, il était nécessaire de faire des coupes plus fines, de 5 à 2 μ d'épaisseur. Pour les réussir, il fallait supprimer les tissus lignifiés, toujours abondants. Afin de ne pas léser les cellules étudiées, nous éliminions ces tissus par dissection après inclusion dans la paraffine, sous la loupe binoculaire. La pièce était ensuite réincluse pour être coupée.

Sauf indications spéciales, nous avons employé la coloration par l'hématoxyline de REGAUD.

Nous aurions souhaité consacrer cette partie de nos recherches aux phénomènes de dédifférenciation qui se produisent au cours de l'ontogénie normale de la Tomate. Mais les difficultés techniques dont nous avons parlé nous ont obligé à faire l'étude la plus détaillée sur les formations provoquées expérimentalement. Cependant nous avons pu aborder par comparaison l'étude des formations spontanées, et nous en dégagerons les analogies et les différences.

Nous commencerons par l'étude morphologique et histologique de l'origine et de l'édification des ébauches.

Nous passerons ensuite à l'étude cytologique des remaniements entraînés dans les divers tissus de la tige par la formation des méristèmes adventifs.

CHAPITRE II

ÉTUDES MORPHOLOGIQUES ET HISTOLOGIQUES

L'origine des initiales méristématiques est la même, et l'édification des ébauches de racines entraîne le remaniement des mêmes assises de tissus dans les trois modes de production que nous avons étudiés. Nous n'aurons donc pas à séparer les trois séries d'observations.

I. — Anatomie de la tige normale.

Tige jeune. — Des coupes transversales et longitudinales dans les entre-nœuds de la tige jeune montrent de l'extérieur vers l'intérieur la succession de tissus suivante (fig. 7 et 8) :

1° Un épiderme (*ép.*) portant de nombreux poils, dont certains sont glanduleux. Quelques cellules épidermiques renferment des chloroplastes. Les stomates sont peu nombreux ;

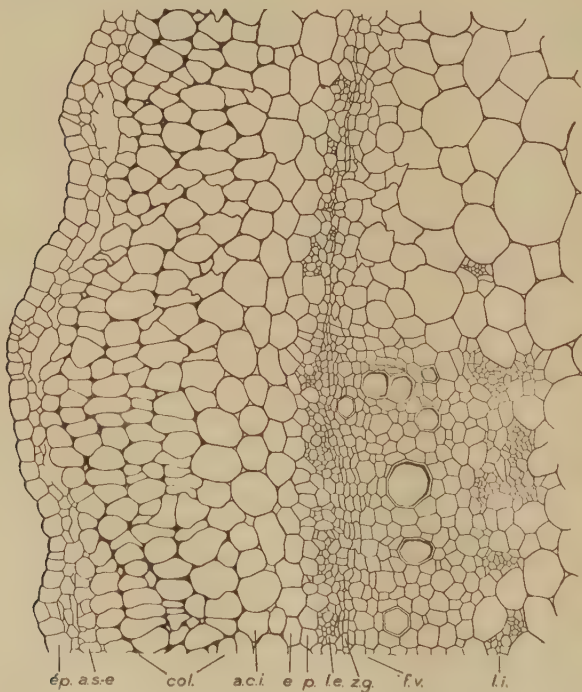


FIG. 7. — Coupe transversale dans une tige jeune de Tomate. (Explication dans le texte.) ($\times 70$.)

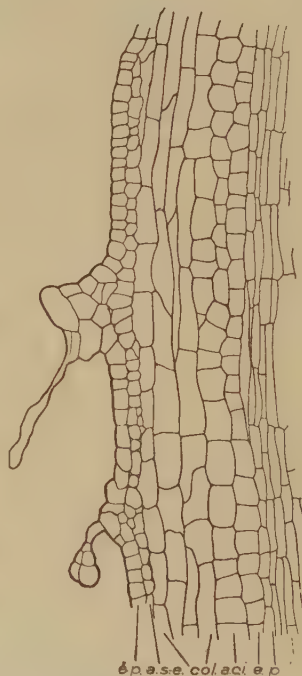


FIG. 8. — Coupe longitudinale dans une tige jeune de Tomate. (Explication dans le texte.) ($\times 70$.)

2° L'écorce comprend d'abord une assise sous-épidermique (*a. s. e.*), dédoublée çà et là, très chlorophyllienne, dont les cellules laissent de nombreuses lacunes entre elles et les assises voisines ;

3° Un *parenchyme cortical moyen*, qui se transforme en collenchyme (*col.*). Il comporte de trois à cinq assises de cellules chlorophylliennes ;

4° Un *parenchyme cortical interne*, formé généralement d'une seule assise de grandes cellules très chlorophylliennes (*a. c. i.*) ;

5° Un *endoderme* formé de grandes cellules peu allongées, à grands chloroplastes généralement chargés d'amidon (*e.*) ;

6° Une assise peu régulière de cellules plus petites et plus allongées que les cellules endodermiques, très chlorophylliennes, forme le *péricycle* (*p.*) ;

7° Sous le péricycle se trouvent *trois à cinq faisceaux libéro-ligneux secondaires*, dits de « première formation », comprenant un faisceau libérien (*l. e.*) et un faisceau vasculaire (*f. v.*) séparés par une zone génératrice très nette (*z. g.*).

Entre ces faisceaux s'en forment de plus petits, et l'assise sous-péricyclique commence à se transformer en zone génératrice interfasciculaire.

A la pointe interne des faisceaux vasculaires, des cordons de *liber interne* commencent à se développer (*l. i.*) ;

8° Le centre de la coupe est occupé par du parenchyme médullaire.

Tige âgée. — Les différences avec la tige jeune sont les suivantes (fig. 9 et 10) :

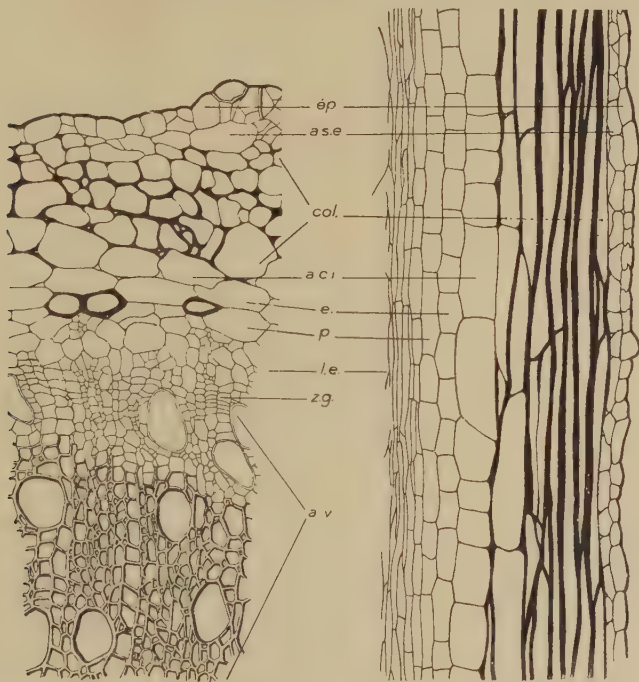


FIG. 9. — Coupe transversale dans une tige âgée de Tomate. (Explication dans le texte.) ($\times 70$.)

FIG. 10. — Coupe longitudinale dans une tige âgée de Tomate. (Explication dans le texte.) ($\times 70$.)

1° *Écorce.* — Le parenchyme moyen est transformé en collenchyme angulaire. Les autres assises sont inchangées.

2° *Cylindre central.* — Les tissus conducteurs forment un anneau cylindrique continu.

Le *bois* (*a. v.*) s'est particulièrement épaissi. Le *liber interne* s'est également développé.

En outre, un certain nombre de cellules du péricycle se sont différenciées en *fibres péricycliques*, longs éléments fusiformes à membrane cellulosique épaissie.

II. — Observations morphologiques externes.

La formation d'une ébauche radiculaire se manifeste de très bonne heure par l'apparition sur la tige d'un petit mamelon d'un vert plus clair que celui de l'écorce environnante et d'aspect translucide.

Ces excroissances apparaissent par groupes sur les entre-nœuds et sont disposées en files longitudinales. Lorsque la tige est inclinée sur le sol, elles se forment spontanément du côté inférieur, tourné vers la terre humide. Lorsqu'elles prennent naissance sur tout le pourtour des entre-nœuds, elles forment généralement trois à cinq rangées longitudinales (fig. 5 et 6), chaque file correspondant au bord latéral d'un faisceau libérien de première formation (Voir fig. 70). Dans le cas des boutures, les racines sont d'autant plus précoces qu'elles se trouvent plus près de la base (fig. 6). Au bout de huit à dix jours, les boutures présentent des racines et des ébauches à tous les stades de leur évolution. Enfin, lorsque l'atmosphère est trop sèche, les primordiums ne percent pas l'écorce, ils cessent de croître et demeurent à l'état d'ébauches latentes. Le fait se produit souvent dans le cas des formations spontanées à la base des tiges. Les entre-nœuds qui les portent présentent alors des excroissances verruqueuses où se forment fréquemment des pigments anthocyaniques.

III. — Origine et construction des ébauches.

DORN [65] et KISSER [144] ont déjà signalé que les racines adventives de Tomate se forment à partir du parenchyme libérien et des cellules du péricycle. Mais ils n'ont pas apporté toutes les précisions désirables à cette étude histologique, et nous devons, de toute manière, la reprendre, les conditions de nos expériences étant différentes.

LES PREMIÈRES DIVISIONS ET L'ORIGINE DES CELLULES MÉRISTÉMATIQUES. — Les premières mitoses qui annoncent l'édification prochaine des ébauches se produisent dans le péricycle. Elles sont d'abord localisées à de petites plages de 2 à 4 cellules, puis elles s'étendent aux cellules environnantes du péricycle et aux cellules du parenchyme libérien sous-jacent. Dès ce stade, ces assises de cellules oblongues sont interrompues par un massif

FIG. 11. Premiers cloisonnements du péricycle (*p*). — FIG. 12. Les cloisonnements gagnent le liber; premiers cloisonnements de l'endoderme (*e*) visibles en haut et à gauche du massif de petites cellules. — FIG. 13. Massif encore inorganisé, homogène, coiffé par le manchon de petites cellules provenant de l'endoderme (*e*). — FIG. 14. Début d'organisation et apparition de la polarité: elongations cellulaires dans la région basale. — FIG. 15. Méristème presque organisé: la région subapicale reste désordonnée. ($\times 80$.)



11



12

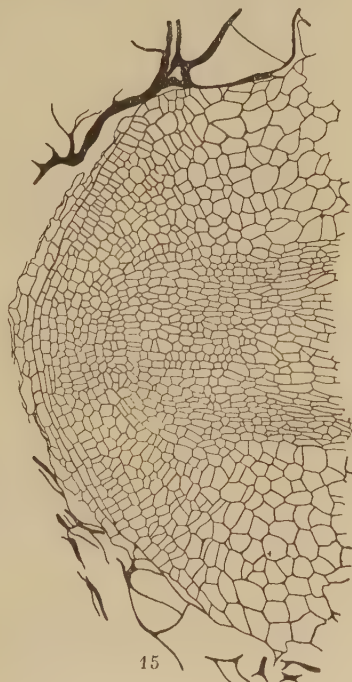


13

FIG. 11 à 15. — *Épification progressive des ébauches radiculaires :*



14



15

de petites cellules isodiamétriques, légèrement plus épais que les assises primitives (fig. 11).

Ce léger épaissement ne suffirait pas à produire le petit mamelon qui se forme à la surface de la tige, mais bientôt les cellules corticales qui recouvrent l'ébauche s'accroissent en épaisseur, commencent à se diviser et contribuent presque exclusivement à former le boursoufflement superficiel.

L'activité mitotique des cellules péricycliques, qui s'est étendue déjà au parenchyme libérien, ne tarde donc pas à se propager également dans l'écorce. Les cellules de l'endoderme, puis de l'assise corticale interne et même du collenchyme entrent en divisions. L'étude de l'édification des ébauches radiculaires va nous permettre de préciser la signification et le résultat de l'activité des cellules de chacune de ces catégories.

L'ÉDIFICATION DES ÉBAUCHES RADICULAIRES. — Les cellules péricycliques se divisent d'abord dans les trois directions transversale, tangentielle et radiale, de sorte que cette assise de cellules allongées se dédouble en deux puis plusieurs assises de cellules isodiamétriques plus petites (fig. 11). Mais bientôt des cloisonnements obliques se produisent en tous sens, de sorte que la disposition régulière des cellules s'efface et qu'il se forme un petit massif d'apparence homogène, auquel s'incorporent les cellules issues des divisions des cellules sous-jacentes du parenchyme libérien (fig. 12 et 13). La prolifération désordonnée de l'ensemble se poursuit pendant quelque temps, puis les mitoses s'orientent peu à peu et manifestent l'apparition d'une *polarité*.

Les petites cellules du massif qui se trouvent du côté de l'axe de la tige



FIG. 16. Point végétatif achevé : l'orientation des cloisonnements n'apparaît régulier qu'au delà de la région des initiales, région où subsiste un petit massif homogène. ($\times 80$.)

édifient la *région basale* de l'ébauche. Elles s'allongent dans le sens radial de la tige (fig. 14), puis se cloisonnent transversalement, de manière à former des files cellulaires également radiales (fig. 15). L'élongation des cellules basales repousse la région opposée du massif, tournée vers l'écorce qu'elle comprime ; cette région forme la partie *apicale* de l'ébauche.

Dans la région apicale, les cloisonnements s'orientent perpendiculairement à la surface du massif, de sorte que des assises cellulaires hémisphériques se différencient peu à peu (fig. 15). Elles demeurent toutefois peu distinctes

près du sommet, où il reste une région subapicale dans laquelle la disposition n'est pas aussi régulière que plus latéralement. Les cellules de

cette région subapicale constituent les initiales méristématiques de l'ébauche radiculaire néoformée. C'est donc seulement autour de ces initiales que les cellules se disposent régulièrement en assises concentriques, par suite de l'orientation des mitoses. Ces assises se raccordent bientôt par leurs bords latéraux avec les files cellulaires radiales de la base, et l'ébauche prend l'aspect caractéristique d'une jeune racine (fig. 16).

Les initiales méristématiques dérivent donc essentiellement des cellules du péricycle, tandis que les cellules qui les entourent et sont douées d'une activité prolifératrice orientée dérivent en partie du péricycle et en partie du parenchyme libérien.

Dans cette esquisse de l'édification du méristème, nous n'avons mentionné que le péricycle et le parenchyme libérien. Il nous faut envisager encore ce que deviennent les autres éléments du liber : tubes criblés différenciés ou en voie de différenciation et « cellules-compagnes », qui se trouvent appliquées contre les éléments précédents (fig. 17).

Les tubes criblés adultes demeurent passifs lors de l'édification de l'ébauche, mais les cellules des futurs tubes criblés et les cellules-compagnes prolifèrent et forment des files de petites cellules d'aspect particulier. Ces files se raccordent aux éléments qui se différencieront plus tard en tissus conducteurs dans la jeune racine. Elles contribueront donc principalement à construire les raccordements vasculaires et criblés entre l'ébauche radiculaire et les tissus conducteurs de la tige.

LES REMANIEMENTS DES CELLULES CORTICALES. — Tandis que les cellules issues du péricycle et du liber édifient l'essentiel de l'ébauche, les cellules de l'endoderme prolifèrent et forment un manchon protecteur, constitué le plus souvent de deux assises de petites cellules autour de la région apicale (fig. 12, premières mitoses, puis fig. 13 à 15). Ces assises reçoivent les efforts de pression de l'ébauche en voie d'élongation; elles sont finalement détruites lorsque la jeune racine perce l'écorce; elles sont alors remplacées par la coiffe nouvellement différenciée. Il arrive que les cellules d'origine endodermique les plus proches du méristème se divisent plus activement et s'incorporent en partie à la région apicale, mais elles ne font jamais partie du massif des initiales méristématiques.

Quant aux cellules de l'écorce interne et du collenchyme, elles se divisent peu activement et constituent seulement au-dessus de l'ébauche un mamelon formé de grandes cellules isodiamétriques (fig. 14).

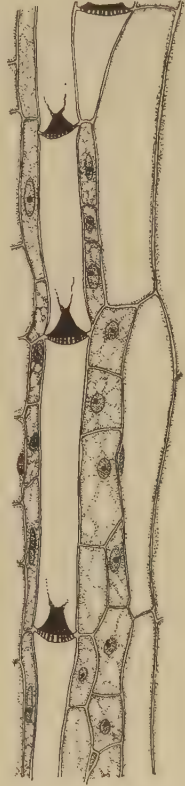


FIG. 17. — Tubes criblés et cellules compagnes dans la tige de Tomate. (× 250.)

Nous voyons donc que la formation de racines adventives le long des entre-nœuds de la tige de Tomate entraîne des remaniements dans de nombreuses catégories de cellules. Nous étudierons les modifications cytologiques qui en résultent dans chaque cas, mais cette esquisse histologique montre que ce sont surtout les cellules du péricycle qui se dédifférencient jusqu'au stade de cellules initiales de méristèmes radiculaires, à potentialités histogénétiques étendues. Toutefois, d'autres types de cellules perdent les caractères de leur spécialisation première pour se transformer soit en tissus différents de ceux dont elles faisaient partie (cellules de l'endoderme et du parenchyme libérien), soit en groupements cellulaires qui se diversifieront plus tard en se redifférenciant (cellules-compagnes des tubes criblés). Ces derniers types cellulaires manifestent donc également des extensions de potentialités qui autorisent à leur attribuer un début de dédifférenciation.

CHAPITRE III

ÉTUDES CYTOLOGIQUES

Nous décrirons d'abord la structure cytologique des diverses cellules intéressées par l'édification des racines adventives, puis nous examinerons l'évolution régressive de chaque type cellulaire, en commençant par les cellules périecyiques, dont les modifications sont les plus profondes.

I. — Structure des divers types cellulaires de la tige normale.

Nous résumerons brièvement les caractères cytologiques des cellules du collenchyme, de l'assise corticale interne, de l'endoderme, du périecyle et des divers éléments du liber, cellules dont nous aurons à préciser les transformations.

Les cellules du collenchyme. — Les cellules de l'écorce moyenne sont des éléments de grande taille (100 à $300\ \mu \times 50\ \mu \times 50\ \mu$ environ) dont les



FIG. 18. — Noyaux polyploïdes de cellules du collenchyme de Tomate, montrant des fusions incomplètes de masses nucléaires et un nombre variable de nucléoles. ($\times 1\ 850$.)

parois sont épaissies aux angles. Elles contiennent une pellicule de cytoplasme peu épaisse, et toute la région centrale est occupée par une grande vacuole. Le chondriome comprend de petits éléments bacilliformes, quelques mitochondries granuleuses et de très nombreux chloroplastes lenticulaires, plus petits que ceux des autres cellules corticales. Ces chloro-

plastest portent de petits grains d'amidon et sont souvent groupés autour du noyau.

Ce dernier est très volumineux et renferme parfois deux ou plusieurs nucléoles (fig. 18). Il présente souvent un contour légèrement lobé qui suggère l'idée de l'accolement de deux ou plusieurs noyaux, et d'une fusion plus ou moins complète, en particulier pour les nucléoles, peut-être à la suite de caryocinèses non suivies de division des cellules. Nous avons rencontré exceptionnellement des cellules collenchymateuses renfermant deux noyaux entièrement séparés; ce fait, joint à des observations que nous résumerons plus loin, appuie cette manière de voir, mais il serait intéressant de suivre la différenciation de ces cellules.

Les cellules de l'assise corticale interne. — Elles forment une assise de grandes cellules parallélipédiques ($70 \text{ à } 80 \mu \times 35 \text{ à } 45 \mu \times 35 \text{ à } 45 \mu$), à parois minces et de structure voisine de celle des éléments du collenchyme. Toutefois les chloroplastes sont plus grands, plus aplatis, plus vivement pigmentés, et le noyau est petit et ne renferme qu'un seul nucléole.

Les cellules de l'endoderme. — Ce sont de grandes cellules presque cubiques ($50 \text{ à } 65 \mu \times 50 \times 50 \mu$), à membrane mince, sans épaississements. Elles possèdent une fine pellicule pariétale de cytoplasme; presque tout leur volume consiste donc en une grande vacuole. Le noyau est relativement très petit ($8 \mu \times 6 \text{ à } 8 \mu \times 5 \mu$), lenticulaire ou ellipsoïde; il est situé contre la membrane et ne contient qu'un seul nucléole. Le chondriome est formé de mitochondries granuleuses, de courts bâtonnets et de très gros chloroplastes ovoïdes ($8 \mu \times 5 \mu \times 4 \mu$) chargés de grains d'amidon volumineux (Pl. VI, fig. 1) et dispersés dans tout le cytoplasme.

Les cellules du péricycle. — Les cellules péricycliques à membrane mince (Pl. I, fig. 3) sont plus allongées et moins larges que celles de l'endoderme ($50 \text{ à } 70 \mu \times 30 \text{ à } 35 \mu \times 30 \text{ à } 35 \mu$). Le cytoplasme et la vacuole ont toujours les mêmes caractères. Le chondriome, très divisé, est constitué de courts bâtonnets bacilliformes, de mitochondries granuleuses et de nombreux chloroplastes très plats, discoïdes ou lenticulaires, de grande taille ($3 \text{ à } 5 \mu$ de diamètre), et fortement pigmentés (Pl. I, fig. 3). Le noyau est plus gros que celui des cellules endodermiques ($10 \times 7 \times 6 \mu$); il est à peu près lenticulaire ou en forme d'ellipsoïde peu allongé. Il se tient appliqué contre la membrane, et la face en regard de la paroi est souvent beaucoup plus aplatie que la face opposée. Ce noyau renferme un seul nucléole, en général.

C'est dans les cellules péricycliques que nous avons le plus étudié la structure des noyaux des cellules de Tomate. La réaction nucléale de FEULGEN montre que la chromatine forme un réseau fin et très lâche, portant aux nœuds de beaucoup de ses mailles des chromocentres relativement volumineux (Pl. XXX, fig. 1). Les noyaux des divers types cellulaires de la tige ne diffèrent guère au point de vue de la chromatine que par les dimensions variables des chromocentres.

Les cellules de la zone génératrice libéro-ligneuse. — Les cellules cambiales sont longues et plates ($80 \text{ à } 100 \mu \times 12 \text{ à } 15 \mu \times 4 \text{ à } 6 \mu$). On y trouve une couche pariétale de cytoplasme et une grande vacuole. Le noyau, lenticulaire ou ellipsoïde, est très aplati ($10 \mu \times 6 \text{ à } 10 \mu \times 4 \mu$). Le chondriome est exclusivement constitué de mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets ; on ne distingue pas de plastes différenciés.

Les tubes criblés. — Les tubes criblés sont formés de cellules placées bout à bout et dont la longueur est voisine de celle des cellules cambiales dont elles dérivent (100μ environ). En plus des parois extrêmes transformées en cribles, ces éléments sont caractérisés par la dégénérescence de la matière vivante. Celle-ci forme une fine pellicule pariétale, où se trouve un noyau fusiforme qui disparaît dans les tubes adultes et un chondriome présentant des caractères de sénescence.

Les cellules des tubes criblés différenciés n'ont aucune descendance dans les ébauches radiculaires, mais nous résumerons ici les caractères du chondriome, car nous rencontrerons des figures analogues au cours de cette étude et ultérieurement, à propos des tumeurs.

Pendant la différenciation des tubes criblés, une grande partie des chondriosomes se vésiculisent, se distendent parfois considérablement et prennent les formes les plus variées (Pl. V, fig. 1). Souvent, une partie seulement de chaque chondriosome est vésiculisée ; il se compose alors d'une région distendue et d'un ou de plusieurs appendices punctiformes ou filiformes (Pl. V, fig. 1). Au cours de la différenciation des tubes criblés, les chondriosomes vésiculisés deviennent de plus en plus grands et irréguliers, de plus en plus faiblement colorables, et disparaissent enfin dans les tubes criblés âgés. La vésiculisation du chondriome apparaît donc ici comme un processus de dégénérescence, peut-être comparable à la déchromatinisation du noyau qui se produit également dans les tubes criblés.

Il semble que les chondriosomes et les plastes puissent se transformer ainsi. En tout cas, les vésicules ne donnent pas les réactions de l'amidon. Nous n'avons pas réussi davantage à y déceler de mucilages, ni de lipides, ni de protides. Leur contenu nous est donc inconnu.

Les cellules-compagnes et les cellules des jeunes tubes criblés. — Ces deux types cellulaires diffèrent assez peu par leur structure cytologique. Les cellules jeunes des futurs tubes criblés fournissent en effet, par division longitudinale, des cellules étroites et longues, qui se cloisonnent transversalement et constituent les *cellules-compagnes*, ayant conservé la structure des cellules précédentes. Toutefois, les cellules des jeunes tubes criblés ont généralement une grande vacuole centrale, tandis que le cytoplasme des *cellules-compagnes* est dense et contient de nombreuses petites vacuoles (Pl. V, fig. 2). Le noyau est petit, ellipsoïde ou sphérique, souvent en position centrale, et renferme un petit nucléole.

Mais ces cellules doivent surtout leur aspect particulier au chondriome,

qui se compose exclusivement de mitochondries granuleuses ou ovoïdes, plus grosses que celles des autres types cellulaires (Pl. V, fig. 2).

Les cellules du parenchyme libérien. — Ce sont des cellules allongées (60 à 100 μ $\times$ 15 à 30 μ $\times$ 15 à 30 μ), de beaucoup les plus nombreuses dans le liber. La plupart sont chlorophylliennes, et leur structure est analogue à celle des cellules péricycliques (Pl. IV, fig. 1).

D'autres sont dépourvues de chloroplastes ; on en trouve en particulier au-dessous des fibres péricycliques. Dans ce cas, le chondriome est exclusivement formé de mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets bacilliformes (fig. 20, a).

Nous voyons que la plupart des cellules qui, lors de l'édification des ébauches, retrouveront le plus d'activité prolifératrice possèdent un degré de différenciation comparable à celui de beaucoup de cellules adultes : elles sont pauvres en cytoplasme ; leur noyau est petit et rejeté contre la membrane ; le volume cellulaire est occupé en majeure partie par une grande vacuole unique ; enfin, le chondriome comporte des plastes parfaitement différenciés. Il en résulte que nous rencontrerons des régressions structurales très importantes au cours du remaniement de ces diverses cellules.

II. — La dédifférenciation des cellules du péricycle.

C'est sur les entre-nœuds traités par le coton humide que nous avons étudié le plus longuement l'évolution des cellules péricycliques. Nous décrirons donc ce cas en détail et nous traiterons par comparaison les deux autres cas, relatifs aux boutures et aux formations spontanées.

A. — CAS DES RACINES PROVOQUÉES SUR DES PLANTES ENTIÈRES.

L'évolution des cellules du péricycle peut être divisée en deux grandes phases, que nous examinerons successivement.

LA PREMIÈRE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION. LA RÉGRESSION DES CHLOROPLASTES. — Les modifications du cytoplasme, de l'appareil vacuolaire et du noyau qui se produisent au cours de cette première phase ne sont que les ébauches des transformations qui caractérisent la seconde. Nous les étudierons donc dans leur ensemble au paragraphe suivant, et nous n'envisagerons ici que l'évolution des chloroplastes et des chondriosomes, qui est sensiblement terminée à la fin de la première phase.

La régression des chloroplastes. — Ce n'est qu'après trois semaines environ que les premières mitoses se produisent dans le péricycle. Au cours de cette longue période préparatoire, l'entre-nœud abrité de la lumière

par le manchon de coton s'est légèrement appauvri en chlorophylle. Lorsque les premières divisions se produisent, l'évolution régressive des chloroplastes est très rapide et doit être suivie tout entière dans les cellules résultant de ces premières mitoses. Après 4 ou 5 mitoses successives, la régression des plastes est presque achevée déjà (Pl. I, fig. 1 et 2). Nous la suivrons d'abord sur des coupes traitées par la méthode de REGAUD.

En même temps que les cellules, les chloroplastes entrent en divisions d'une manière très active. Ils s'étranglent suivant un diamètre, et les deux moitiés s'écartent, puis se séparent. Très souvent la région étranglée s'étire beaucoup avant de se rompre, et les chloroplastes-fils sont parfois dans des régions éloignées de la cellule avant de devenir tout à fait indépendants ; ils sont alors réunis par une fine trabécule de substance plastidiale (Pl. I, fig. 4, 7, 8, 10). Après leur séparation, ils restent pourvus, pendant quelque temps, d'un appendice filamenteux qui représente le vestige de la région étirée (Pl. I, fig. 4, 5, 7), et se divisent parfois de nouveau avant la résorption de cet appendice (Pl. I, fig. 4, 5, 7). Ces divisions répétées dispersent les chloroplastes en éléments fusiformes de plus en plus petits. Cependant, beaucoup reprennent des contours circulaires ou elliptiques entre les périodes de division (Pl. I, fig. 4 à 13).

Bientôt, les cellules résultant de quelques cloisonnements successifs ne contiennent plus que des petits chloroplastes légèrement plus volumineux que les chondriosomes et presque tous sphériques ou ovoïdes, à moins qu'ils ne soient en voie de division (Pl. I, fig. 11, 12, 13).

Les divisions des plastes se poursuivent toujours activement, si bien que leur ensemble se réduit à l'état d'éléments globuleux de moins en moins distincts des chondriosomes ordinaires (Pl. I, fig. 12, 13). Finalement ils se trouvent transformés en granules qui se confondent parfaitement avec les mitochondries (Pl. II, fig. 1, où d'anciens plastes sont encore légèrement distincts vers le bord gauche de la cellule supérieure gauche).

L'observation vitale apporte quelques précisions supplémentaires. Elle confirme les résultats précédents et montre, en outre, que la chlorophylle disparaît progressivement au cours de la dédifférenciation. Les petits plastes globuleux, tels que ceux de la figure 10 (Pl. I), n'en contiennent apparemment plus.

A la fin de la première phase, les chloroplastes sont donc complètement dédifférenciés.

Les modifications des chondriosomes. — Avant l'apparition des processus de dédifférenciation, le chondriome banal des cellules normales est déjà morcelé en éléments très petits. Ces éléments se divisent au cours des mitoses du début de la première phase, mais d'une manière très modérée, compensant seulement leur dispersion à la suite des mitoses. Par contre, des modifications plus importantes se manifestent bientôt. Elles consistent dans le gonflement et la vésiculation des chondriosomes, qui se transforment d'abord en mitochondries granuleuses de taille plus grande que celle des mitochondries initiales, et ceci qu'il s'agisse des

mitochondries ou des courts bâtonnets bacilliformes (Pl. I, fig. 4, 6). Le gonflement se produit généralement dès les premières mitoses ; il s'accroît ensuite, et une région claire, non colorable, apparaît au centre de beaucoup de chondriosomes, qui se présentent alors comme des sphérules ou comme de petites massues creuses, piriformes ou oblongues, dont presque toute la substance colorable est condensée à la base ou aux deux extrémités (Pl. I, fig. 4, 6 à 12). Nous n'avons pas réussi à déterminer la nature de la substance centrale non colorable des vésicules, mais il ne s'agit certainement pas d'amidon. Ce processus rappelle donc celui que nous avons décrit dans les cellules des tubes criblés (cf. p. 63), mais nous allons voir qu'il se comporte tout différemment.

En effet, alors que, dans les cellules des futurs tubes criblés, la vésiculation des chondriosomes aboutit à leur dégénérescence, la vésiculation présente reste *très limitée*, et, d'autre part, elle est parfaitement *réversible*. Les vésicules ne dépassent jamais le diamètre de 1,5 à 2,5 μ , mais, à la fin de la première phase de dédifférenciation (Pl. I, fig. 13, et Pl. II, fig. 1), la région centrale des vésicules se réduit et s'annule, les chondriosomes redeviennent semblables aux mitochondries gonflées du début, puis leurs dimensions diminuent par suite de divisions répétées et reviennent aux proportions normales. Simultanément, les chondriosomes se diversifient de nouveau en mitochondries granuleuses et en bâtonnets bacilliformes (Pl. II, fig. 1).

À la fin de la première phase de dédifférenciation, les cellules du péri-cycle se sont transformées en éléments beaucoup plus petits (de l'ordre de 20 μ de côté), dont le cytoplasme est encore réparti en une couche pariétale et renferme une seule grande vacuole. Le noyau, moins aplati, est toujours rejeté sur un côté de la cellule, et le chondriome est exclusivement constitué d'éléments en forme de chondriosomes, granuleux ou en courts bâtonnets, parmi lesquels on ne reconnaît pas de plastides différenciés. Bien que leurs formes soient différentes, ces cellules ont une structure cytologique comparable à celle des cellules de la zone génératrice. La première étape de dédifférenciation a donc ramené les cellules péri-cycliques à un état structural analogue à celui des cellules de *méristèmes secondaires*, bien qu'elles ne dérivent pas de tels méristèmes.

LA SECONDE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION : LE RETOUR AU TYPE MÉRISTÉMATIQUE PRIMAIRE. — À la fin de la première phase, l'ébauche est constituée d'un massif homogène de petites cellules dont les dimensions sont à peu près uniformes. Dans la région externe, les cellules continuent à proliférer plus activement que vers la base et subissent la seconde phase de dédifférenciation.

Au cours de cette dernière étape, les transformations morphologiques les plus importantes concernent le noyau d'une part, le cytoplasme et l'appareil vacuolaire d'autre part. Nous envisagerons successivement ces deux ensembles, et nous ajouterons quelques compléments sur le chondriome et les granulations lipidiques.

L'évolution du noyau. — A la suite de chacune des mitoses successives qui se produisent au cours de la première étape, les noyaux interphasiques reprennent toujours la même situation latérale que dans les cellules péricycliques normales. Cependant leur forme se modifie peu à peu : ils s'aplatissent moins le long de la paroi, surtout sur leur face opposée à la membrane (Pl. I, fig. 5). A la fin de cette période, beaucoup de noyaux sont à peu près hémisphériques (Pl. I, fig. 9) ou piriformes (Pl. II, fig. 1) ou en forme d'ellipsoïde de révolution. Malgré les mitoses répétées, le volume nucléaire ne diminue que lentement au début de la première phase (Pl. I, fig. 1 et 2), il passe de 300 à 250 μ^3 environ. A la fin de cette phase, il augmente dans beaucoup de cellules par suite de leur croissance, mais dans d'autres, qui seules vont continuer à se différencier, il continue à décroître régulièrement.

Au début de la seconde phase, le volume nucléaire est constant ou légèrement décroissant, puis il décroît plus rapidement, à la suite d'une recrudescence d'activité mitotique et se stabilise finalement à une valeur voisine de 75 μ^3 , qu'il conserve jusque dans les cellules méristématiques.

Au cours de cette période, le noyau devient presque sphérique et gagne le centre des cellules. Le rapport $\frac{v}{V}$ du volume nucléaire au volume cellulaire augmente considérablement : il passe d'une valeur de l'ordre de $\frac{1}{250}$

à une valeur voisine de $\frac{1}{10}$. Au début de la différenciation, ce rapport n'a pas la signification qu'il aurait dans les cellules animales, par suite de l'énormité du volume vacuolaire des cellules végétales différenciées. Le véritable rapport nucléoplasmique, ne tenant compte que du volume du cytoplasme, est généralement difficile à évaluer. Nous avons vu cependant (p. 49) comment on peut en obtenir l'ordre de grandeur. Dans les cellules péricycliques vivantes, l'épaisseur de la pellicule cytoplasmique pariétale est de 0,5 à 0,7 μ . Nous la prendrons égale à $\frac{2}{3}$ μ en moyenne. Le rapport nucléoplasmique serait alors de l'ordre de $\frac{1}{30}$. Dans les cellules méristématiques, où il devient voisin du rapport $\frac{v}{V}$ par suite de la réduction des

vacuoles, il prend une valeur voisine de $\frac{1}{10}$. Ces nombres sont peu différents, relativement à l'approximation des mesures ; toutefois, le premier ne tenant pas compte du volume des plastes et du cytoplasme qui les entoure et le dernier étant calculé sans l'élimination du volume des vacuoles, il est probable que la rectification des erreurs accentuerait l'écart entre les deux chiffres, et que le véritable rapport nucléoplasmique augmente bien au cours de la différenciation.

Ces modifications morphologiques et volumétriques du noyau se produisent en même temps que des *modifications structurales*.

Tout d'abord, dès les premières mitoses, le nucléole devient plus volumineux que dans les cellules normales (Pl. I, fig. 3, 4, 6, 7, 9, 11, 12, 13). Cet accroissement du nucléole s'accroît encore à la fin de la différenciation (Pl. II, fig. 1 à 6). En outre, le noyau s'enrichit progressivement en chromatine, surtout au cours de la seconde phase. Les chromocentres se montrent plus nombreux, à volume égal de substance nucléaire, et les mailles du réseau s'épaississent (Pl. XXX, fig. 5 et 6).

L'évolution du cytoplasme et des vacuoles. — A la fin de la première phase, les cellules renferment encore une seule vacuole centrale, mais le cytoplasme forme une couche pariétale déjà plus épaisse que dans les cellules initiales. Au début de la seconde phase le cytoplasme devient de plus en plus abondant et des trabécules en nombre croissant se tendent au travers de la vacuole (Pl. II, fig. 2). C'est à ce moment que le noyau commence à s'éloigner de la paroi où il se tenait appliqué. Dans certaines trabécules, les mouvements de cyclose entraînent des quantités de cytoplasme assez importantes pour que le noyau puisse y passer et gagner le centre de la cellule (Pl. II, fig. 3). Ces tractus s'élargissent bientôt suffisamment pour former une nappe de cytoplasme qui cloisonne la grande vacuole en deux vacuoles plus petites. La figure 3 (Pl. II) montre les bases de ces nombreuses trabécules, qui ont été rompues par l'effet du fixateur. L'isolement des territoires vacuolaires est représenté sur la figure 4. Les nombreuses petites vacuoles ainsi formées tendent à devenir sphériques, ce qui laisse supposer une tension superficielle élevée à la surface cytoplasme-vacuoles et un contenu vacuolaire peu concentré. Les fixateurs ne conservent généralement rien de ce contenu (Pl. II, fig. 5).

Dans les cellules qui deviennent tout à fait méristématiques, ces vacuoles se réduisent considérablement (Pl. II, fig. 6). Les noyaux sont alors presque sphériques et les vacuoles ont parfois des formes étirées qui paraissent indiquer que la tension superficielle au contact cytoplasme-vacuoles a diminué. Il est probable que le contenu vacuolaire s'est concentré et a pris une consistance plus visqueuse. Toutefois, il faut remarquer que, même dans les cellules les plus différenciées, à très petites vacuoles, la plupart de celles-ci restent globuleuses.

Le comportement du chondriome au cours de la seconde phase. — Les mitochondries et les courts bâtonnets bacilliformes qui constituent le chondriome à la fin de la première phase continuent à se diviser en même temps que les cellules qui les contiennent. Ils ne subissent pas d'autres modifications qu'une sensible réduction de taille (Pl. II, fig. 1 et 6). Par contre, ils deviennent de plus en plus abondants, et les cellules méristématiques de l'ébauche achevée renferment un chondriome nombreux et très divisé, formé de mitochondries granuleuses, en majorité, et de courts bâtonnets bacilliformes, plus petits que dans les cellules dont elles dérivent.

LES GRANULATIONS LIPIDIQUES. — Les granulations lipidiques sont très petites et peu abondantes, aussi bien dans les cellules péricycliques normales que dans les cellules

de l'ébauche qui en dérive. Elles ne subissent pas de modifications sensibles au cours de la dédifférenciation. Il en sera de même pour les autres types cellulaires que nous étudierons, et nous ne reviendrons pas sur ces inclusions du cytoplasme.

B. — CAS DES BOUTURES DE TIGES.

La principale différence entre les cellules péricycliques des plantes entières et celles de la base des boutures est l'accumulation d'amidon dans les chloroplastes de ces dernières. En effet, après section de la tige, chacun des chloroplastes discoïdes des cellules péricycliques élabore plusieurs grains d'amidon ovoïdes et se renfle en amande, chaque grain restant complètement englobé dans la substance élaboratrice (Pl. III, fig. 1).

LA RÉGRESSION DES CHLOROPLASTES AMYLIFÈRES. — Les chloroplastes chargés d'amidon ne commencent à régresser qu'au bout d'un temps plus long que dans le cas précédent. Tout d'abord, ils commencent à résorber leurs grains d'amidon, qui deviennent plus petits, puis ils se divisent, chaque moitié conservant une partie des grains en voie de digestion, de sorte que les chloroplastes résultants sont de plus en plus petits et simples (Pl. III, fig. 2 à 5). Beaucoup ne portent bientôt plus qu'un, deux ou trois petits grains ovoïdes. Simultanément, la substance mitochondriale s'aminait peu à peu autour des grains, sauf en un ou plusieurs points où elle se ramasse au contraire et forme une masse plus importante (Pl. III, fig. 3, 4). Au bout de quelque temps, chaque grain se transforme en une inclusion d'aspect fluide, qui a tendance à devenir sphérique et n'est plus constituée que par des produits de digestion de l'amidon, dont nous n'avons pas déterminé la nature. A ce moment, la substance plastidiale s'est entièrement ramassée sur le côté de chaque inclusion, où elle forme soit une calotte, soit une petite masse sphérique ou fusiforme (Pl. III, fig. 4, 5, 6).

Dès lors, ce qui reste des grains d'amidon n'est plus sous la dépendance de la substance plastidiale : chaque partie évolue séparément. La substance élaboratrice se retrouve, libérée de toute inclusion, sous forme de petits plastes, sphériques ou fusiformes ou en croissants qui se divisent encore plusieurs fois (Pl. III, fig. 7, 8). Ils deviennent de plus en plus petits et se dispersent finalement en granules de mêmes dimensions que les mitochondries banales avec lesquelles ils se confondent (Pl. IV, fig. 7, 8).

Le cytoplasme des cellules parvenues à ce stade présente un aspect alvéolaire, particulièrement autour du noyau. Cet aspect est dû aux petites vacuoles transitoires, peu réfringentes, que constituent les restes des produits de digestion de l'amidon (Pl. III, fig. 7, 8).

Dans certains cas, la résorption de l'amidon est plus rapide et s'achève avant la régression complète des chloroplastes. Ceux-ci se trouvent alors libérés sous forme d'éléments globuleux ou fusiformes de grande taille. Ils se divisent et se dédifférencient comme les chloroplastes que nous avons étudiés dans le cas précédent (Pl. III, fig. 9).

Ces faits, dégagés de l'étude de coupes traitées par la méthode de

REGAUD, sont confirmés par l'observation vitale, qui montre en outre que la chlorophylle disparaît peu à peu au début de la régression, dont il est difficile de suivre la fin, lorsque les plastes sont dépigmentés.

L'ÉVOLUTION DES CHONDRIOSOMES. — Au cours de la dédifférenciation des cellules amylières, la vésiculation des chondriosomes ne se produit pas avec la même ampleur que dans le cas des plantes entières. On remarque seulement une tendance générale des chondriosomes à devenir globuleux : les bâtonnets disparaissent presque totalement (Pl. III, fig. 4 à 6). Ce fait correspond à un gonflement qui reste léger et ne s'accroît généralement pas, comme dans le cas précédent, en vésiculation. Avant la fin de la première phase de dédifférenciation, ce gonflement disparaît, et des chondriosomes bacilliformes se reconstituent, de plus en plus nombreux (Pl. III, fig. 8).

La seconde phase de dédifférenciation est semblable à celle que nous avons décrite dans le cas des plantes entières.

C. — CAS DES FORMATIONS ADVENTIVES SPONTANÉES.

Lorsque l'ébauche se forme assez près du sol, ou se trouve au contact d'un milieu suffisamment humide, elle poursuit sa croissance, la jeune racine perce la tige et continue son développement. La dédifférenciation des cellules péricycliques se produit alors comme précédemment, à quelques légères différences près. Par exemple, la première phase est moins rapide, car les cellules ont un degré de maturité plus avancé et les chloroplastes sont plus persistants.

Au contraire, si la jeune ébauche se trouve dans une région de la tige en contact avec un milieu trop sec, sa croissance s'arrête peu après l'édification du méristème, et la jeune racine reste à l'état d'ébauche dormante interne. Dans ce dernier cas, des particularités cytologiques se manifestent à la fin de la seconde phase ; elles confirment la règle générale selon laquelle l'arrêt de l'activité prolifératrice est suivi de processus de différenciation. Ces processus concernent principalement le chondriome et l'appareil vacuolaire.

DIFFÉRENCIATION DU CHONDRIOME DANS LES ÉBAUCHES DONT LA CROISSANCE EST SUSPENDUE. — L'arrêt de la croissance entraîne des modifications dans les deux lignées du chondriome.

Dans les initiales méristématiques (Pl. V, fig. 10) et dans les cellules du cylindre central embryonnaire, les chondriosomes s'allongent d'une manière inaccoutumée, et beaucoup se transforment en longs chondriocotes flexueux. La comparaison de la figure 6 (Pl. II) et de la figure 10 (Pl. V) montre bien la différence d'aspect des cellules méristématiques.

Les jeunes cellules corticales ne manifestent pas cet allongement des chondriosomes, mais nous verrons qu'elles présentent d'autres modifications.

Dans les cellules du parenchyme de la base des ébauches, l'arrêt du développement provoque la différenciation de chloroplastes circulaires ou elliptiques, aplatis et très pigmentés. Ils deviennent aussi volumineux que ceux des cellules péricycliques normales, mais ne sont pas aussi constamment groupés autour du noyau ; ils montrent encore la dispersion des plastes à la fin de leur dédifférenciation précédente.

DIFFÉRENCIATIONS INTRAVACUOLAIRES DANS LES ÉBAUCHES DONT LA CROISSANCE EST SUSPENDUE. — Les préparations obtenues par la méthode de REGAUD montrent constamment d'importants précipités vacuolaires dans les cellules du méristème et dans les jeunes cellules corticales des ébauches à croissance arrêtée. Ces précipités n'existent pas, ou sont très rares, dans les ébauches dont la croissance est active. Nous nous sommes arrêté longuement à leur étude, car nous les retrouverons dans les tumeurs produites sur la même plante par *Phytophthora tumefaciens*. Des précipités semblables, rencontrés dans les *Crown-galls*, ont été présentés comme caractéristiques des tissus tumoraux.

Dans les petites vacuoles des cellules méristématiques, après traitement par la méthode de REGAUD, ces inclusions se présentent soit en précipités sphériques, soit en ménisques à bords minces, simulant de façon frappante les corps décrits sous le nom de *dictyosomes* (Pl. V, fig. 10). Ces petites cupules sont appliquées contre un pôle de la vacuole, ou à ses deux extrémités. Parfois, le précipité est étiré en haltère ou comporte l'association des formes précédentes. Dans les préparations, ces corps sont colorés en brun.

Dans les vacuoles, plus spacieuses, des cellules corticales, on retrouve en plus grand les aspects précédents auxquels s'ajoutent d'autres figures (Pl. V, fig. 11). Certains précipités sont sphériques et renferment un globule excentrique moins coloré.

Ces préparations ne permettent pas de se faire une idée de l'aspect réel des vacuoles dans les cellules vivantes ; nous avons donc fait des observations vitales, puis des réactions histochimiques en vue de reconnaître la nature approximative de ces corps.

Nous avons d'abord constaté que ces précipités existent dans les vacuoles des cellules vivantes ; ils ne sont pas dus à l'action du fixateur. Leur aspect est très caractéristique ; ce sont des corps sphériques, très réfringents, dont les dimensions peuvent atteindre et dépasser celles du noyau. Ils présentent dans leur région centrale un globule de réfringence différente, qui leur donne l'aspect d'un noyau pourvu d'un nucléole (Pl. IV, fig. 8). Parfois, le corps central revêt une forme plus compliquée, qui paraît résulter de l'agglomération de plusieurs granules sphériques. Des corps semblables ont été décrits dans les tumeurs par RIKER [223]. Ils présentent, d'autre part, des analogies de formes avec les concrétions décrites par MIRANDE sous le nom de *stérinoplastes* dans le bulbe de Lis et étudiées chimiquement par REILHES [220].

Les colorations vitales au rouge neutre et au bleu de crésyl, effectuées

en suivant l'opération sous le microscope, montrent, au moment où les vacuoles commencent à se teinter, que les corps qu'elles renferment se colorent intensément avec rapidité, sans que leur structure se modifie (Pl. IV, fig. 11).

Pour déterminer la nature de ces inclusions, dans la mesure du possible, nous avons d'abord fait agir divers solvants, en opérant avec ménagements entre lame et lamelle et en suivant la pénétration au microscope.

Nous avons ainsi observé leur dissolution instantanée dans l'alcool, et moins rapide dans l'acétone. Sous l'action de ce dernier solvant, le corps central disparaît d'abord, puis l'ensemble prend une texture fibreuse avant la dissolution. Certains précipités, morphologiquement semblables aux autres, résistent à l'action prolongée de l'acétone ; si l'on ajoute ensuite de l'alcool, ils disparaissent instantanément.

Les essais de coloration par les solutions de soudan III et de noir-soudan B, même dans des alcools dilués, ont été négatifs, les corps se dissolvant dans l'alcool avant la pénétration du colorant.

Les caractères de solubilité de ces inclusions et leur forte réfringence nous conduisent pourtant à essayer d'autres réactions des lipides, d'autant plus qu'en lumière polarisée ils se montrent biréfringents et présentent le phénomène de la croix noire. Ces gouttelettes intravacuolaires sont donc constituées de corps capables de donner des « cristaux liquides » (LEHMANN). Ces corps appartiennent habituellement à certains groupes de lipides : les stérides et les phospholipides.

Toutefois, la *réaction de Liebermann*, effectuée selon la technique de SCHULTZE, s'est montrée négative après essais répétés ; nous n'avons donc pas pu mettre de stérides en évidence.

De même, la *réaction de Smith-Dietrich*, caractéristique des phospholipides, a toujours été négative. En la répétant sur des coupes à main levée, exécutées sans fixation préalable, nous avons pu retrouver les corps intravacuolaires après la réaction. Ils n'étaient colorés, en brun clair, que par le bichromate employé au mordantage. En outre, beaucoup d'autres vacuoles étaient colorées en brun, d'une manière homogène, et d'autres encore contenaient de gros précipités brun foncé. Cette réaction n'a donc fait que déceler l'existence de tanins.

Nous avons essayé encore la coloration par l'acide osmique à 2 p. 100, malgré sa faible spécificité. Cette solution colore très légèrement la zone périphérique et plus nettement, en brun clair, le corps central.

Ce dernier se gonfle et ne laisse bientôt plus subsister qu'une étroite auréole claire autour de lui. Il se réduit ensuite, revient à son diamètre primitif, puis s'anime de mouvements browniens, se corrode et disparaît. Le corps intravacuolaire tout entier se gonfle, devient presque invisible, puis disparaît à son tour. Ces réactions sont donc beaucoup plus compliquées que celles que donnent habituellement les globules lipidiques. D'autre part, après fixation par le mélange de MEYER, les coupes montées sans coloration ne montrent pas de précipités colorés dans les vacuoles, tandis que les granulations lipidiques du cytoplasme sont colorées en brun clair.

La coloration au *bleu d'indophénol naissant* est fortement positive sur certains des corps étudiés, tandis que d'autres se colorent faiblement.

Dans les deux cas, la teinte est d'un bleu franc, alors que les lipides cytoplasmiques se colorent en bleu violacé.

Ces résultats font donc supposer la présence de tannins. Toutefois, les solutions de chlorure ferrique à 5 p. 100 et à 20 p. 100, introduites entre lame et lamelle, déforment, puis détruisent les corps intravacuolaires.

Le bichromate de potassium, en solution diluée, à 3 p. 100, les colore progressivement en brun clair, sans les déformer. Par la suite, la coloration s'accroît (Pl. V, fig. 10), et les corps centraux peuvent se déformer.

En outre, dans certaines cellules, le liquide vacuolaire se colore en brun d'une manière homogène, ou bien le réactif précipite de nouvelles granulations, fortement colorées, indiquant la présence de tannins en solution.

L'emploi de la solution saturée de bichromate a fourni également des réactions positives. La plupart des corps étudiés sont d'abord détruits, puis la cellule se plasmolyse fortement, et les corps reprécipitent avec leur aspect caractéristique et se colorent vivement en brun rouge (Pl. IV, fig. 9).

Ces globules semblent donc contenir des tannoïdes, qui existent d'autre part en solution dans le liquide vacuolaire.

Signalons enfin que les réactifs des mucilages ne les colorent pas. Quant aux réactions des protides, il est difficile d'en conclure, car elles détruisent les corps étudiés. D'ailleurs, les réactions de solubilité rendent peu probable l'existence de protides en proportions notables.

Il paraît donc presque certain que les corps intravacuolaires renferment des tannoïdes, mais ils n'en donnent pas les réactions avec beaucoup d'intensité, et leur structure hétérogène incite à leur attribuer une composition plus complexe. D'ailleurs, il n'a jamais été démontré, à notre connaissance, que des cristaux liquides puissent être composés de tannoïdes.

Quoi qu'il en soit, nous voyons que ces corps ne sont pas une conséquence des processus tumoraux, mais paraissent ici en rapport avec des processus de prolifération et de croissance très ralenties ou suspendues.

* * *

En résumé, la dédifférenciation des cellules péricycliques se produit donc en deux temps. Le premier est caractérisé par la dédifférenciation des chloroplastes et conduit à un état structural comparable à celui des cellules des méristèmes secondaires. Le second temps, qui est surtout illustré par le morcellement de l'appareil vacuolaire, consiste dans le passage de l'état structural de méristème secondaire à l'état de cellules méristématiques primaires, normales et fonctionnelles, qui manifestent les potentialités histogénétiques étendues des initiales radiculaires habituelles. Nous sommes donc en présence de processus de dédifférenciation d'autant plus profonds que les cellules, issues d'un méristème de tige, acquièrent les potentialités de cellules méristématiques de racines.

Des processus de dédifférenciation moins importants, mais bien caractérisés, atteignent d'autres cellules que les cellules péricycliques ; nous les décrirons maintenant brièvement, en commençant par les diverses cellules du liber.

III. — La dédifférenciation des cellules chlorophylliennes du parenchyme libérien.

Le bouturage entraîne parfois la formation d'amidon dans le parenchyme libérien comme dans le péricycle, mais le plus souvent les cellules vertes de ce tissu présentent seulement des chloroplastes plus évolués



FIG. 19. — Mitose longitudinale d'une cellule de parenchyme libérien de Tomate. La caryocinèse est terminée, mais le phragmoplaste continue à élaborer la plaque cellulaire, en formant un bourrelet strié qui s'étend sur tout son pourtour. ($\times 1\,000$.)

et plus vivement colorables que dans les entrenœuds traités au coton humide. Elles fournissent des préparations plus contrastées, remarquablement lisibles. C'est pour cette raison que nous avons choisi le cas des boutures pour décrire l'évolution des cellules chlorophylliennes du liber. Dans les grandes lignes, les processus régressifs sont comparables à ceux des cellules péricycliques des plantes entières ; nous décrirons donc surtout les différences.

L'APPARITION DES PROCESSUS DE DÉDIFFÉRENCIATION. — Au moment où elles reprennent leur activité mitotique, perdue depuis peu de temps, des cellules, qui dérivent directement du cambium, retrouvent souvent la propriété de se diviser longitudinalement comme les cellules cambiales. Ces premières mitoses sont très curieuses et rappellent les mitoses longitudinales des cellules cambiales de *Pinus*, décrites par BAILEY [3] : la caryocinèse se fait au milieu de la cellule, et les deux noyaux fils sont reconstitués bien avant que la plaque cellulaire atteigne les extrémités de la cellule. Cette plaque s'étend progressivement par suite du fonctionnement prolongé des bords du phragmoplaste (fig. 19). Nous décrirons plus complètement de tels processus dans la troisième partie de ce mémoire.

Les figures du début de la dédifférenciation ressemblent alors à celles des cellules en voie de *différenciation* à partir du cambium, et les deux processus inverses pourraient être confondus si les mitoses « régressives » ne se produisaient pas au milieu de cellules qui ne se divisent manifestement plus. L'apparition ultérieure de cloisonnements transversaux et la formation de cellules de plus en plus isodiamétriques caractérisent le mieux la dédifférenciation (Pl. IV, fig. 4 à 7).

LA PREMIÈRE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION. — *La régression des chloroplastes.* — La dédifférenciation peut commencer avant la première mitose par des divisions actives des chloroplastes, le plus souvent synchroniques pour tous les plastes d'une même cellule. Les figures montrant tous les chloroplastes étranglés en haltères, autour du noyau, sont très fréquentes (Pl. V, fig. 2). Tandis que les mitoses commencent à se produire, les divisions des chloroplastes se répètent (Pl. V, fig. 3 et 4), comme dans le cas des cellules péricycliques. Elles sont assez actives pour que certains plastes portent parfois plusieurs étranglements (Pl. V, fig. 5, au-dessus du noyau, et fig. 6, à gauche du noyau), ou bien deviennent fusiformes, les extrémités pointues représentant les traces des étirements précédents (Pl. V, fig. 5 et 6).

Vers la fin de la première phase, les plastes issus de cette longue suite de divisions répétées forment de petits granules dont les dimensions se réduisent peu à peu (Pl. V, fig. 7), de sorte qu'ils se dispersent finalement dans le cytoplasme en éléments de même taille que les mitochondries avec lesquelles ils se confondent.

L'évolution des chondriosomes. — En plus des mitochondries et des courts bâtonnets, les cellules du parenchyme libérien renferment parfois des chondriocontes plus ou moins longs. Au cours de la première phase, tous ces éléments se divisent plusieurs fois (Pl. IV, fig. 2 et 3), et les chondriocontes se transforment en granules et en courts bâtonnets (Pl. IV, fig. 5). Quelques rares chondriosomes peuvent se gonfler légèrement et former de petites vésicules, mais ce processus reste très limité. Le trait essentiel de cette évolution est donc la division des chondriosomes en éléments petits et nombreux (Pl. IV, fig. 6 et 7).

Les longues cellules du parenchyme libérien se trouvent ainsi transformées en éléments isodiamétriques, renfermant une grande vacuole unique et dont le cytoplasme est réparti en une pellicule pariétale. Après chaque mitose, le noyau reste appliqué contre la nouvelle membrane de segmentation et reprend une forme aplatie. Enfin les cellules ne contiennent plus de plastes différenciés, et le chondriome se compose exclusivement de mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets.

Cette structure, identique à celle des cellules péricycliques après la première phase de dédifférenciation, est cytologiquement comparable à celle des cellules de la zone génératrice (Cf. p. 63).

LA SECONDE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION. — La dédifférenciation des cellules les plus internes du parenchyme libérien, qui forment la région la plus basale de l'ébauche, s'arrête souvent à la fin de la première phase. Elle se poursuit au delà dans les cellules les plus externes, qui forment la région moyenne de l'ébauche et constituent une transition, histologique et cytologique, entre le massif méristématique apical et les tissus de la base.

Ces cellules, qui continuent à se diviser, et dont les cloisonnements sont

orientées de manière à édifier les files cellulaires qui se raccordent aux assises apicales, subissent une évolution comparable à celle des cellules d'origine péricyclique, au début de la seconde phase (Cf. p. 66-69). Toutefois, cette évolution ne se poursuit pas jusqu'à la constitution de véritables initiales méristématiques ; elle s'arrête au stade où l'appareil vacuolaire est formé de vacuoles globuleuses, de taille décroissante et en nombre croissant depuis la base jusque vers la pointe de l'ébauche.

Le noyau émigre vers le centre de la cellule et devient à peu près sphérique. Sa structure évolue comme dans le cas des cellules issues du péri-cycle. Il en est de même du chondriome.

IV. — La dédifférenciation des cellules non chlorophylliennes du parenchyme libérien.

Certaines files du parenchyme libérien sont composées de cellules non chlorophylliennes. Ce sont des éléments allongés, renfermant un chon-

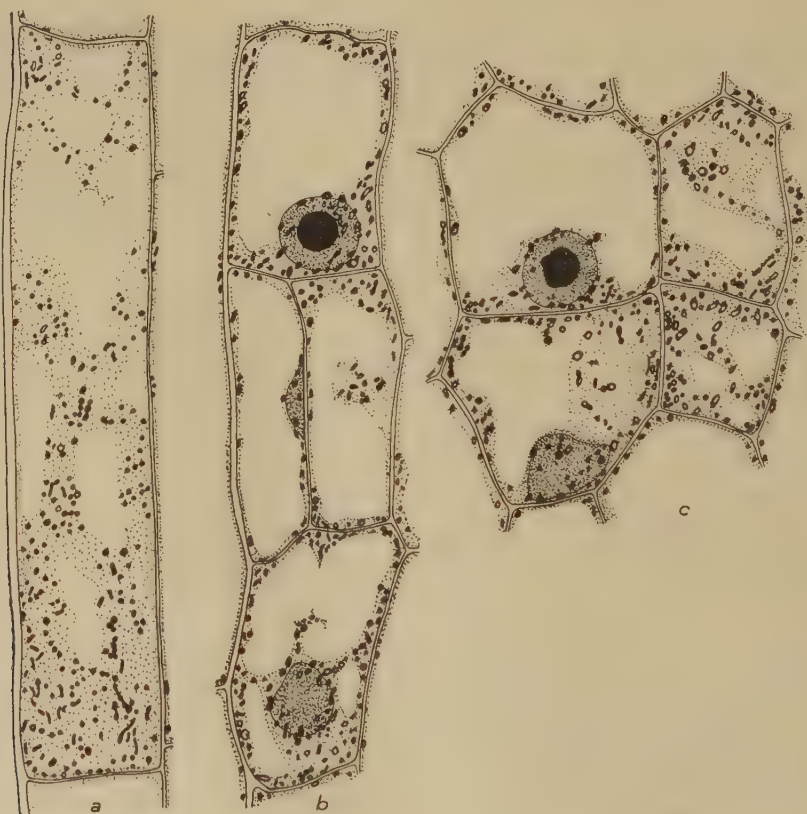


FIG. 20. — Tige de Tomate. Dédifférenciation des cellules non chlorophylliennes du parenchyme libérien. (Explication dans le texte.) ($\times 1\,000$.)

drôme exclusivement constitué de mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets (fig. 20, *a*). Au début de leur remaniement, elles subissent presque simultanément des mitoses longitudinales et transversales (fig. 20, *b*), puis s'accroissent en épaisseur et donnent naissance à des cellules plus ou moins isodiamétriques (fig. 20, *c*).

Dès les premières mitoses (fig. 20, *b*), le chondriome se gonfle et presque tous les bâtonnets deviennent globuleux. Dans les files situées sous les files péricycliques, où nous avons choisi la plupart de nos exemples, ce gonflement s'accroît, et de nombreux chondriosomes se vésiculisent comme dans le cas des cellules péricycliques (Cf. p. 66) (fig. 20, *b* et *c*). Cette vésiculation est également réversible, de sorte qu'à la fin de la première phase les cellules considérées ne se distinguent plus de celles qui proviennent des cellules chlorophylliennes.

En résumé, l'ensemble des cellules du parenchyme libérien subit des régressions structurales importantes, mais généralement moins poussées que celles qui atteignent les cellules péricycliques. Toutefois, elles perdent définitivement leur spécialisation et manifestent des potentialités étendues à la genèse de tous les tissus, conducteurs et autres, de la base de la jeune racine. Nous sommes donc bien en présence de véritables processus de dédifférenciation.

V. — La dédifférenciation des cellules-compagnes et des tubes criblés jeunes.

Dans certaines files cellulaires du liber, chaque cellule se divise longitudinalement en deux cellules inégales. La cellule la plus vaste devient un élément de tube criblé, tandis que l'autre, plus étroite, se divise transversalement, une ou plusieurs fois, et constitue les cellules-compagnes, qui conservent une structure cytologique à peu près constante.

Lorsque de tels groupes de cellules se trouvent incorporés aux tissus d'une jeune ébauche, ils sont remaniés avec ces derniers. Les plus jeunes tubes criblés sont alors déviés de leur évolution en cours; ils subissent des mitoses transversales et deviennent analogues aux cellules-compagnes. L'évolution des cellules de chacune de ces deux catégories est alors identique. Nous suivrons en particulier l'évolution des cellules-compagnes, qui sont de beaucoup les plus nombreuses.

L'appareil vacuolaire de ces éléments est assez variable d'une cellule à une autre et peut être aussi dans le temps pour une même cellule. Les travaux de BAILEY [6] ont montré une instabilité semblable dans les cellules cambiales d'arbres. Il en résulte que nous ne retrouverons pas aussi nettement que dans ce qui précède les deux phases de dédifférenciation, la première étant caractérisée par la permanence de la grande vacuole, la seconde par le morcellement de cette vacuole. Néanmoins, ces deux phases existent, mais elles présentent des caractères différents.

LA PREMIÈRE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION : LA VÉSICULISATION DU CHONDRIOME. — Dès le début de l'activation, les mitochondries granuleuses qui forment exclusivement le chondriome (Pl. V, fig. 2) se gonflent et se vésiculisent pour la plupart (Pl. V, fig. 3). Ce processus ressemble beaucoup, au début, à la vésiculation observée au cours de la régression des cellules périecycliques (Cf.p. 65). En réalité, cette vésiculation revêt bientôt une ampleur qu'elle n'atteint jamais dans le cas précédent (Pl. V, fig. 3 à 7) et rappelle celle qui se produit au cours de la différenciation des tubes criblés. Certains chondriosomes sont distendus par leur contenu, et leur substance mitochondriale forme une pellicule épaissie en un ou plusieurs pôles, où elle constitue de petites masses en boutons ou des appendices plus ou moins longs (Pl. V, fig. 5). La vésicule elle-même est parfois sphérique, mais elle peut présenter les déformations les plus diverses. Elle atteint souvent un volume aussi grand que le nucléole ou même que certaines vacuoles, dont elle ne se distingue que par le contour colorable de substance mitochondriale (Pl. V, fig. 5 à 8).

Remarquons que tous les chondriosomes ne se vésiculisent pas ; ceux qui restent homogènes ne se modifient pas sensiblement au début, mais ils se divisent au fur et à mesure de leur dispersion dans les cellules issues de la prolifération. Ils s'affinent progressivement (Pl. V, fig. 2 à 5) et se diversifient en mitochondries granuleuses et en bâtonnets.

Simultanément, le cytoplasme devient de plus en plus abondant. L'appareil vacuolaire se segmente, et les nombreuses vacuoles qui en résultent se réduisent et deviennent très petites (Pl. V, fig. 5 à 7 et partie inférieure de la fig. 4). De bonne heure, la conservation fréquente du contenu vacuolaire indique un accroissement notable de sa concentration (Pl. V, fig. 4, cellules médiane de gauche).

Le noyau augmente généralement de volume après les premières mitoses ; par la suite, il se forme de très petites cellules et le volume nucléaire diminue. Le noyau demeure au centre de la cellule et prend une forme de plus en plus sphérique. Le nucléole grossit considérablement dès cette première phase.

LE SECONDE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION : LA RÉGRESSION DES VÉSICULES MITOCHONDRIALES. — Lorsque les cellules-compagnes se sont transformées en files ou en massifs de très petites cellules à cytoplasme dense, la vésiculation des chondriosomes s'arrête et leur évolution s'inverse en quelque sorte : ils se dévésiculisent peu à peu. Parfois les vésicules se résorbent à l'intérieur des chondriosomes en se réduisant sans changer de forme ; mais la plupart se déforment beaucoup. En général, elles s'aplatissent, et la substance mitochondriale se rassemble sur leur pourtour en formant un bourrelet refermé ou non sur lui-même (Pl. V, fig. 5 et 6, autour des noyaux). Après la résorption complète de la vésicule, la substance mitochondriale se retrouve sous forme d'un gros chondrioconte, très long et d'épaisseur irrégulière, reconnaissable à ses dimensions hors de proportions avec celles des autres chondriosomes (Pl. V, fig. 7 et 8).

Ce long filament flexueux se divise en éléments plus courts, qui deviennent de plus en plus fins et finissent par se transformer en courts chondriocontes et en bâtonnets semblables aux chondriosomes ordinaires (Pl. V, fig. 9).

L'ensemble des chondriosomes, devenu homogène, continue à se diviser en granules de plus en plus nombreux et petits, caractéristiques des cellules méristématiques.

Pendant ce temps, l'appareil vacuolaire continue à se réduire. Les vacuoles deviennent nombreuses mais très petites, et le cytoplasme, abondant, paraît très dense (Pl. V, fig. 9). Le noyau s'enrichit encore en chromatine, et le nucléole reste relativement volumineux.

Au terme de la seconde phase, les petites cellules forment des cordons qui raccordent le tissu libérien de la tige avec les futurs tissus conducteurs de la jeune racine adventive. Ultérieurement, ces cellules se différencieront pour former des tissus conducteurs dans la racine. Certains deviendront, par exemple, des éléments de tissu vasculaire. Pour cette raison au moins nous pouvons affirmer que les « cellules-compagnes » ont réellement perdu leur spécialisation primitive et que leur descendance a manifesté des potentialités diversifiées. Les transformations structurales que nous avons décrites correspondent donc réellement à des phénomènes de dédifférenciation, bien qu'elles ne conduisent pas jusqu'à l'édification de massifs méristématiques à potentialités très étendues.

VI. — La dédifférenciation des cellules de l'endoderme.

Les cellules endodermiques situées au-dessus de l'ébauche radiculaire entrent en activité pour édifier un manchon de cellules protectrices autour du jeune méristème. Elles subissent des régressions structurales qui rappellent la première phase de dédifférenciation des cellules péricycliques. Au-delà de ce premier temps, une seconde phase s'ébauche pour les cellules les plus internes, mais elle ne se poursuit pas aussi loin que pour les cellules issues du péricycle. Nous envisagerons successivement ces deux étapes.

LA PREMIÈRE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES ENDODERMiques : LA RÉGRESSION DES CHLOROPLASTES. — Comme dans les cellules péricycliques, les chloroplastes se modifient très tôt, dès que les premières mitoses se produisent. La première phase est également caractérisée par d'importantes modifications du chondriome, que nous décrirons à la suite de celles des plastes.

La dédifférenciation des chloroplastes. — La dédifférenciation des chloroplastes endodermiques est beaucoup moins rapide que celle des chloroplastes péricycliques, par suite des gros grains d'amidon qu'ils

renferment (Pl. VI, fig. 1). Elle est précédée d'une *phase de résorption* de l'amidon, dont la digestion se poursuit toujours à l'intérieur des plastes. Parfois, les grains deviennent simplement de plus en plus petits et prennent des formes d'amandes aplaties (Pl. VI, fig. 2).

Dans la plupart des cas, la résorption de l'amidon est beaucoup plus lente; avant qu'elle soit achevée, la substance plastidiale se ramasse en une ou plusieurs plages à la surface des grains. Ces régions de concentration peuvent se séparer les unes des autres, ou se diviser, emportant chacune une partie des grains d'amidon, de sorte que les plastes résultants sont plus simples (Pl. VI, fig. 3). Chacun comprend une masse, fusiforme ou piriforme, de substance plastidiale appliquée contre un ou plusieurs grains d'amidon ovoïdes, qu'elle entoure d'une très fine pellicule. Les divisions de cette substance peuvent se répéter, tandis que les grains d'amidon se réduisent peu à peu (Pl. VI, fig. 4). Ils ne forment bientôt plus que de petites inclusions très aplaties, puis ils disparaissent complètement (Pl. VI, fig. 5).

Les chloroplastes se présentent alors comme des éléments homogènes ovoïdes, piriformes ou fusiformes. Ils ressemblent donc aux chloroplastes des cellules péricycliques après leurs premières divisions (Pl. VI, fig. 5), et la fin de la différenciation est semblable dans les deux cas. Nous ne la reprendrons donc pas en détail; rappelons seulement que les chloroplastes se dispersent en petits éléments qui se confondent peu à peu avec les chondriosomes (Pl. VI, fig. 6 à 9).

Les modifications des chondriosomes. — Les mitochondries et les bâtonnets bacilliformes qui constituent le chondriome banal des cellules endodermiques se modifient peu lors des premières mitoses (Pl. VI, fig. 2). Par la suite, tous les chondriosomes se gonflent et deviennent sphériques ou ovoïdes (Pl. VI, fig. 3, 4), puis certains d'entre eux se vésiculisent (Pl. VI, fig. 5, 7, 8). Cette vésiculation, limitée et réversible, est semblable à celle que nous avons décrite à propos des cellules du péricycle. Vers la fin de la première phase, le contenu des vésicules se réduit et disparaît, et les chondriosomes, tout en se divisant, reviennent peu à peu à leurs dimensions initiales (Pl. VI, fig. 6, 7, 9).

Le noyau quiescent, le cytoplasme et l'appareil vacuolaire se modifient peu au cours de cette première phase. Les cellules renferment encore une seule grande vacuole, et le cytoplasme est réduit à une couche pariétale. Le noyau occupe toujours une position latérale. Enfin le chondriome n'est plus constitué que de mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets, parmi lesquels on ne reconnaît plus la lignée des plastes. Comme précédemment, nous sommes donc ramenés à un type de cellules analogue au type méristématique secondaire.

Certaines de ces cellules, les plus voisines des petits éléments issus du péricycle, peuvent être incorporées au massif de la jeune ébauche; elles subissent alors un supplément de différenciation que nous décrirons brièvement.

LA SECONDE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION. — Les cellules d'origine endodermique situées contre l'ébauche méristématique continuent généralement à se diviser, tandis que les cellules les plus externes cessent très tôt de le faire. Ces dernières ne se dédifférencient pas au delà de la première phase ; au contraire, les cellules les plus voisines du sommet de l'ébauche continuent à se dédifférencier d'une manière analogue aux cellules d'origine péricyclique au début de la seconde phase. Toutefois, leur dédifférenciation ne conduit jamais jusqu'à la constitution d'initiales méristématiques ; elle s'arrête plus ou moins tôt, lorsque les cellules ont acquis une structure intermédiaire entre celle de la fin de la première phase et celle des éléments apicaux du méristème.

Ainsi, au cours de l'édification des jeunes racines adventives, les cellules endodermiques peuvent subir des régressions structurales importantes. Les cellules régressées s'organisant en un tissu nouveau, ces faits correspondent bien à une dédifférenciation, mais celle-ci ne conduit pas à la formation d'initiales méristématiques à potentialités étendues ; elle est donc moins profonde que dans le cas des cellules péricycliques.

VII. — L'évolution des autres cellules corticales.

Les autres cellules de l'écorce subissent plus ou moins passivement les conséquences de la sortie des racines adventives. Des mitoses se produisent toutefois dans les cellules de l'écorce interne et du collenchyme.

COMPORTEMENT DE L'ASSISE CORTICALE INTERNE. — Au début de la formation de l'ébauche, les grandes cellules de l'assise corticale interne (Cf. fig. 7 à 10, *a*, *c*, *i*) sont souvent induites à se diviser transversalement et dans le sens tangentiel, ce qui dédouble l'assise. Ces mitoses sont accompagnées de divisions par étranglements des chloroplastes, qui deviennent plus petits. Mais l'activité prolifératrice ne dure pas et les cellules de cette région sont bientôt comprimées entre le front de la jeune ébauche qui s'accroît et les assises plus rigides du collenchyme. Elles se déforment, s'aplatissent et dégénèrent, érasées par la poussée de la jeune racine.

COMPORTEMENT DES ASSISES COLLENCHYMATEUSES DE L'ÉCORCE MOYENNE. — Dès le début de l'édification de l'ébauche, les grandes cellules du collenchyme s'accroissent en épaisseur et forment le mamelon visible à la surface de la tige. Au cours de cette croissance, les régions épaissies des membranes s'amincissent sensiblement.

Au bout de quelque temps, des mitoses apparaissent, soudainement nombreuses. Les longues cellules se divisent transversalement et deviennent à peu près isodiamétriques. Elles forment un massif de grandes cellules à gros noyau et à membranes minces, dont le cytoplasme, peu abondant, reste sous forme de pellicule pariétale très mince, limitant une grande vacuole.

Ces mitoses des cellules de collenchyme nous ont conduit incidemment à des constatations singulières. Nous avons vu (Cf. p. 62) que les noyaux, très volumineux, se

présentent comme s'ils résultaient de l'accolement de deux ou plusieurs noyaux ; dès la prophase, ces diverses masses nucléaires se fusionnent pour former une seule figure de caryocinèse, où les chromosomes se montrent en nombre polyploïde élevé. Nous espérons entreprendre une étude plus détaillée de la différenciation de ces éléments et de leur constitution nucléaire. Signalons donc seulement ici que les numérations préliminaires que nous avons faites fournissent des chiffres échelonnés entre 90 et 104 chromosomes, soit un nombre voisin de $8n$, le nombre diploïde $2n$ étant de 22 ou 24.

Tandis que ces mitoses se produisent, les chloroplastes, qui sont très nombreux dans les cellules du collenchyme et forment une vaste auréole autour des noyaux, se divisent plusieurs fois en chloroplastes beaucoup plus petits que dans les cellules primitives.

L'amincissement des membranes et l'évolution des chloroplastes sont évidemment des régressions structurales ; de plus, les cellules finales ont perdu leur caractère de cellules de soutien ; elles ont, au contraire, édifié un tissu de moindre résistance, qui sera défoncé par la jeune racine. Il s'agit donc bien ici de processus de dédifférenciation, mais ils restent très légers.

Ajoutons que les cellules de l'assise sous-épidermique peuvent également se diviser. L'assise se dédouble souvent, mais la structure cytologique de ses cellules ne se modifie pas sensiblement.

*
* *

Cette étude montre donc que la formation de racines adventives le long des entre-nœuds de la tige de Tomate entraîne le remaniement de cellules de nombreuses catégories.

Au point de vue histologique, ces remaniements sont de deux sortes. Les uns conduisent à l'édification du méristème radiculaire (cellules péri-cycliques) ; les autres conduisent seulement à la formation de tissus ou d'organes accessoires (endoderme, cellules vivantes du liber).

Au point de vue cytologique, la dédifférenciation revêt les mêmes caractères généraux dans tous les cas. Les cellules reviennent d'abord à un état structural analogue à celui des cellules méristématiques secondaires, puis, dans une seconde phase de dédifférenciation, elles passent à l'état de cellules méristématiques primaires. Cette dernière phase ne se poursuit jusqu'au bout que dans les cellules issues du péri-cycle. L'évolution des cellules des autres catégories s'arrête plus tôt, à un état intermédiaire.

Dans tous les cas cependant, nous avons observé la perte définitive des caractères de spécialisation des cellules primitives, et la différenciation ultérieure dans une ou plusieurs directions nouvelles ; il s'agit donc bien de véritables phénomènes de dédifférenciation, mais ils sont plus ou moins profonds selon les catégories cellulaires intéressées.

Ces faits généraux n'empêchent pas que la dédifférenciation présente des aspects propres à chaque type de cellules. Par exemple, la régression des chloroplastes est lente lorsqu'ils sont chargés d'amidon (endoderme, péri-cycle des boutures) ; elle est rapide dans le cas contraire, mais les

bipartitions synchroniques des cellules du parenchyme libérien ne se retrouvent pas dans les cellules péricycliques des plantes entières.

De même, la vésiculation réversible des chondriosomes, qui apparaît au début de l'évolution régressive, n'est pas toujours aussi accusée. Elle est déjà très nette dans les cellules péricycliques et dans les cellules non chlorophylliennes du parenchyme libérien, mais devient beaucoup plus considérable dans les cellules-compagnes en voie de dédifférenciation.

Enfin, l'arrêt de la croissance fait apparaître dans les ébauches spontanées des précipités intravacuolaires caractéristiques et des chondriocentes d'une longueur inaccoutumée.

DEUXIÈME PARTIE

LA DÉDIFFÉRENCIATION DANS LES BOUTURES DE LIMBE FOLIAIRE DE *BRIMEURA AMETHYSTINA* L.

CHAPITRE PREMIER

INTRODUCTION ET TECHNIQUES

I. — Position systématique, diagnose et biologie de *Brimeura amethystina* L.

Brimeura amethystina L. est une Liliacée à bulbe, de la tribu des Scillées.

Le genre *Brimeura* a été créé par SALISBURY [232] (1886) pour l'espèce *Hyacinthus amethystinus* L. Cette plante se distingue en effet du genre *Hyacinthus* par ses longues bractées florales colorées, qui la rapprochent du genre *Endymion*. L'étude biologique faite par CHOUARD [50] (1931) confirme ce rapprochement. Cet auteur a montré en effet que, chez *Endymion* comme chez *Brimeura*, la germination est hypogée alors qu'elle est épigée chez *Hyacinthus*. Le bulbe est de type tunique à tuniques coalescentes et à renouvellement annuel total ; ces caractères se retrouvent également chez *Endymion*. Le port de la plante est très voisin de celui d'*Endymion*, de sorte que la détermination est difficile en l'absence de fleurs. Par les fleurs, au contraire, les genres *Brimeura* et *Hyacinthus* se ressemblent davantage ; dans les deux cas, le périanthe a les pièces soudées jusqu'aux trois quarts environ de leur longueur, tandis qu'elles ne le sont qu'à la base chez *Endymion*.

B. amethystina est une plante des Pyrénées Centrales, du Nord de l'Espagne, et se trouve également en Bosnie et en Croatie ; elle croît dans les éboulis et les pâturages humides. Le bulbe donne naissance, au printemps, à environ une dizaine de feuilles étroites et allongées, puis à une hampe florale terminée par une inflorescence en grappe très lâche, unilatérale, de 3 à 12 fleurs bleu vif. Les feuilles se dessèchent après la floraison, qui a lieu en mai-juin, et le bulbe entre en phase dite de repos jusqu'au printemps suivant.

Les facultés de reproduction végétative de cette Scillée ont été étudiées par CHOUARD dans le cadre de recherches descriptives et systématiques [50]. Cet auteur a repris ensuite sur des espèces voisines l'étude histologique

de la formation des bulbilles, et il a montré le rôle important, sinon exclusif, joué par l'épiderme [51].

Ce sont ces grandes facilités de multiplication végétative qui nous ont déterminé à commencer nos recherches avec ce matériel. Le fait que l'on peut provoquer, avec une remarquable simplicité, la formation de bulbilles sur le limbe vert des feuilles de cette plante, là où les cellules ont atteint leur différenciation maxima, devait nous fournir un exemple de dédifférenciation particulièrement accessible.

Brimeura amethystina ne présentait pas l'avantage de permettre d'expérimenter toute l'année, mais seulement du début de mars à la fin de juillet, cependant elle était commode par la rapidité du développement des bulbilles ; les phases les plus intéressantes pour nos recherches se trouvaient réalisées en effet dans un délai de huit à trente jours. La période de végétation permettait donc d'entreprendre plusieurs séries d'expériences, de faire les études indispensables sur les tissus frais et de constituer une provision de matériel fixé permettant de compléter cette étude pendant la saison de repos des bulbes.

En outre, il était intéressant d'étudier au moins une Monocotylédone.

Enfin, les boutures de feuilles de *Brimeura amethystina* réalisent un cas de dédifférenciation provoquée exclusivement par l'action de la lumière sur des fragments chlorophylliens isolés de la plante, sans intervention extérieure de substances chimiques ou de bactéries, comme dans les exemples suivants.

II. — Technique de bouturage.

Dès le mois de février, on peut obtenir en serre le développement de feuilles de *Brimeura amethystina*, à partir de bulbes. Inversement, en conservant des bulbes hors de terre jusqu'en fin juin et en ne les plantant qu'alors, on peut obtenir le développement tardif des organes aériens ; il est donc possible, en étalant dans le temps la plantation des bulbes, de se procurer des limbes foliaires en bon état depuis le début de mars jusqu'à la fin de juillet.



FIG. 21. — Disposition des fragments de limbe de *Brimeura*, reposant par leur face dorsale sur du papier-filtre humide, au fond d'une boîte de PETRI. (Réduit aux 2/5.)

Nous avons fait des boutures de ces feuilles en les sectionnant loin de la base, dans la région médiane. Dans cette région bien verte du limbe, les tissus ont atteint le terme de leur différenciation et sont constitués de cellules adultes qui ne prolifèrent plus. Pour obtenir des

bulbilles, il suffit de maintenir ces fragments en atmosphère humide, à la lumière.

Nous réalisons ces conditions très simplement en les couchant dans des boîtes de PETRI dont le fond était garni de papier-filtre humide ; les faces dorsales reposaient sur le papier (fig. 21). Ces boîtes ainsi préparées étaient placées devant les fenêtres du laboratoire exposées au nord-ouest (l'exposition au nord est la plus convenable).

III. — Techniques cytologiques.

Nous remarquerons seulement que l'imperméabilité de la cuticule, qui n'est pas « mouillable » par les fixateurs sans alcool ni acide acétique, rend la fixation assez mal commode. Les fragments ont une forte tendance à flotter sur le liquide, et celui-ci pénètre mal. Nous avons eu ainsi beaucoup de fixations défectueuses. Pour y remédier, nous avons réduit le plus possible la taille des pièces découpées dans la région basale de la bouture.

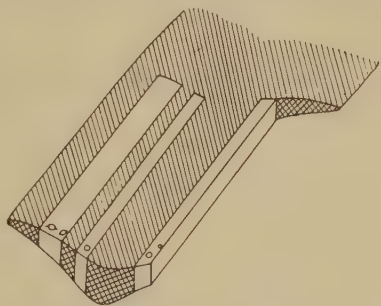


FIG. 22. — Schéma de prélèvement des échantillons à fixer : les parties non hachurées sont seules conservées. ($\times 5$.)

Après avoir repéré les ébauches des bulbilles, à la loupe binoculaire s'il y a lieu, nous découpons dans le limbe, au moyen d'une lame de rasoir, des lanières étroites contenant ces ébauches (fig. 22). Les surfaces épidermiques imperméables sont alors presque aussi réduites que les surfaces de section par lesquelles la pénétration du fixateur est particulièrement aisée après le traitement par le vide. En outre, on obtient ainsi que les pièces tombent au fond du liquide au lieu de flotter, ce qui est indispensable pour une bonne fixation.

Pour les recherches sur le noyau, nous avons fixé par les mélanges de REGAUD, de HELLY et de NAVACHINE. Les coupes étaient colorées à l'hématoxyline de REGAUD, par la méthode de FEULGEN, ou au violet de Gentiane (Cf. p. 45-46).

La plupart des études sur le cytoplasme ont été faites après fixation au mélange de REGAUD, cependant le fixateur de HELLY, suivi de chromisation, et surtout le mélange de MEVES nous ont été d'un grand secours. Nous coupons à des épaisseurs variables de 5 à 1 μ , d'autant plus fines que nous avons affaire à des tissus plus différenciés. D'autre part, il fallait obtenir les coupes en série continue, afin de ne pas laisser passer les premières manifestations, très localisées, d'une reprise d'activité prolifératrice. Ces coupes étaient colorées le plus souvent par l'hématoxyline de REGAUD, et parfois par la fuchsine d'ALTMANN.

CHAPITRE II

PHÉNOMÈNES MORPHOLOGIQUES

Dans les conditions de bouturage que nous venons de décrire, on observe d'abord la cicatrisation de la section qui se fait très simplement. Il se forme des cellules sphériques peu pigmentées, à la suite d'un très petit nombre de divisions de cellules du mésophylle. Ces cellules ne se subérifient sensiblement pas et restent vivantes. Elles rappellent par leur aspect les « cellules migratrices » décrites par GAUTHERET à la surface des tissus cultivés *in vitro* [91], mais elles ne prolifèrent jamais assez pour donner de véritables *pseudothalles*.

Immédiatement au-dessus de la cicatrice, les tissus se gonflent, le mésophylle s'épaissit et forme un bourrelet le long du bord sectionné. Ce renflement paraît dû à l'accumulation de substances élaborées par le limbe, qui ne peuvent plus s'écouler vers le bulbe. La nature de ces substances mobiles ne nous est pas connue, mais elles provoquent la formation de produits de réserves amylacés à cet endroit.

C'est sur ce bourrelet, du côté ventral exposé à la lumière, que se développent des bulbilles. Elles s'annoncent par l'apparition sur la surface de



FIG. 23. — Formation de bulbilles et de racines à la base des boutures : leur disposition paraît quelconque et sans rapport avec les nervures. (Dessiné d'après nature, $\times 10$.)

l'épiderme d'un très petit mamelon, d'abord invisible à l'œil nu, mais reconnaissable au binoculaire. Cette protubérance grossit, atteint un diamètre de l'ordre du millimètre, puis elle se soulève de plus en plus sur la surface de la feuille, et s'y trouve bientôt reliée par un très court pédicelle. Un bourrelet, en forme d'arc, se forme autour du pôle supérieur, il constitue l'ébauche de la première écaille ; d'autres

se forment ensuite, de sorte que la bulbille semble se creuser, puis ces écailles recouvrent la dépression centrale, et la bulbille prend une forme ovoïde régulière en s'accroissant lentement. Le long d'une même cic-

trice, les bulbilles apparaissent sans ordre (fig. 23) ; en particulier, leur disposition ne paraît pas avoir de rapport avec celle des nervures ; ceci fait déjà présumer qu'il s'agit de phénomènes de dédifférenciation et non de reprise d'activité d'îlots méristématiques abandonnés lors de la croissance de la feuille ; nous avons vu, en effet, que dans ce dernier cas les proliférations se produisent en des points bien déterminés.

Le délai d'apparition de ces petits organes varie avec la saison, surtout à cause de l'intensité et de la durée de l'éclairement, avec l'âge de la feuille et peut-être avec la taille du fragment de limbe en expérience, quoique ce dernier facteur conditionne le nombre de bulbilles formées sur une même bouture, plutôt que la vitesse de leur formation. Nous obtenons les meilleurs résultats avec des feuilles relativement longues, mais encore jeunes et bien vertes, dans les conditions normalement réalisées lorsque les jours sont longs. En moyenne, les premières ébauches sont visibles quinze à vingt jours après le bouturage.

Un peu plus tardivement, le renflement basal des boutures donne naissance à des racines. Les premiers temps de leur genèse ne sont pas visibles, comme c'est le cas pour les bulbilles ; elles apparaissent après avoir percé les tissus superficiels. Le lieu d'apparition est variable : elles peuvent traverser l'épiderme supérieur ou l'épiderme inférieur de la feuille. Le plus souvent, elles sortent à travers la surface de section du limbe. Leur répartition est aussi imprévisible que celle des bulbilles. Elles se forment souvent à leur niveau, ou près de leur base, mais elles en sont parfois indépendantes et éloignées. Ces racines appartiennent à la feuille sectionnée et non aux bulbilles qui se sont formées sur cette feuille ; ce sont des racines adventives de la bouture, qui ne doivent pas être confondues avec celles, plus tardives, qui naissent des tissus néoformés de la base des bulbilles et ont, par conséquent, une situation déterminée.

CHAPITRE III

ÉTUDES HISTOLOGIQUES

Bien que ces observations morphologiques montrant la répartition désordonnée des bulbilles et des racines à la base des boutures nous aient donné comme très probable leur formation par dédifférenciation de cellules adultes, il était nécessaire de nous en assurer par l'étude histologique de leur origine.

Nous avons fait cette étude au moyen de coupes en série exécutées après fixation au mélange de HELLY. Ces coupes, colorées à l'hématoxyline et à l'érythrosine, ou encore par la méthode de FEULGEN, mettent bien en évidence les divers tissus de la feuille et permettent, en outre, par l'observation des mitoses, de suivre leur activité de prolifération

I. — Structure de la feuille normale.

Le limbe, qui seul nous intéresse ici, est recouvert par deux épidermes à peu près semblables (fig. 24 et 25) ; ils sont formés de cellules parallélépi-

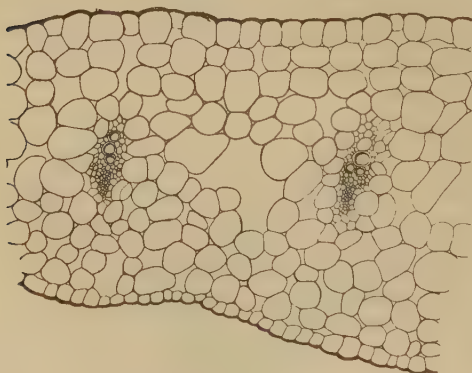


FIG. 24. — Fragment de coupe transversale du limbe normal de *Brimeura*. Entre les deux épidermes se trouve un mésophylle lacuneux dans lequel sont noyés les faisceaux conducteurs. Entre ceux-ci se forme une plus grande lacune. ($\times 80$.)

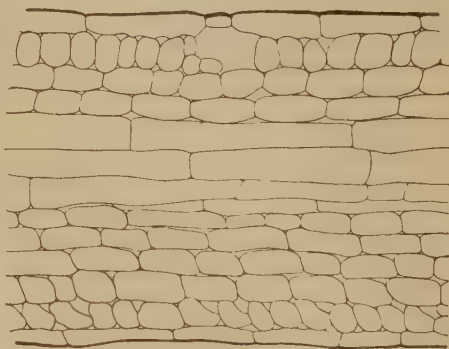


FIG. 25. — Coupe longitudinale du limbe, passant entre deux faisceaux. Les grandes cellules centrales sont en voie de dégénérescence, et leur résorption donne naissance à une grande lacune telle que celle de la figure 24. ($\times 80$.)

pédiques allongées, dépourvues de plastes, et portent des stomates. Les cellules stomatiques ont des chloroplastes peu pigmentés contenant beaucoup d'amidon. Entre ces deux assises se trouve un mésophylle, homogène dans toute l'épaisseur de la feuille, formé de cellules chlorophylliennes

polyédriques aux arêtes émoussées, ou subsphériques, laissant entre elles des méats et des lacunes.

Remarquons qu'il n'y a pas de différenciation de parenchyme palissadique, et cette feuille, dont la position est normalement à peu près verticale, a ses deux faces sensiblement identiques. Cependant la face ventrale est légèrement concave. Le mésophylle est traversé par des nervures longitudinales et parallèles; la nervure médiane est plus grosse et fait saillie sur la face dorsale du limbe, qui s'épaissit à cet endroit. Chaque nervure comprend des tubes criblés et des vaisseaux, ainsi que des cellules de parenchymes libérien et vasculaire dépourvues de chloroplastes et plus allongées que les cellules du mésophylle. Ces cellules contiennent souvent de petits grains d'amidon. Dans la région médiane, entre les nervures, se trouvent de grandes cellules à peu près dépourvues de chlorophylle, qui dégénèrent dans les feuilles âgées et laissent de vastes lacunes (fig. 25).

II. — Origine des bulbilles.

Si l'on fait des coupes longitudinales et perpendiculaires au plan du limbe dans des boutures de huit à douze jours, avant l'apparition de toute trace de bulbille, on constate que des mitoses commencent à se produire à la base du limbe, dans les régions voisines de la section. Les premières se montrent surtout dans les cellules du mésophylle et font partie des phénomènes de cicatrisation. D'autres ne tardent pas à apparaître dans les deux épidermes. Elles sont plus abondantes dans l'épiderme ventral que dans l'épiderme dorsal. Ces mitoses ont d'abord leurs fuseaux orientés parallèlement au sens d'allongement des cellules épidermiques, qui se trouvent donc cloisonnées en cellules de plus en plus courtes.

Si nous nous adressons maintenant à des limbes sectionnés depuis environ deux semaines, nous pourrions saisir, en faisant de nombreuses coupes en série, l'apparition de mitoses dont les axes sont perpendiculaires au plan du limbe (fig. 26). Ces divisions aboutissent donc au dédoublement de l'assise épidermique; elles sont toujours très localisées, au début, à des plages restreintes. Aussi doit-on faire souvent un grand nombre de préparations avant de les trouver. Ces premières divisions ne sont d'abord accompagnées d'aucune croissance cellulaire, de sorte que l'on reconnaît un moment les membranes non déformées des cellules épidermiques initiales (fig. 26). Cependant les mitoses parallèles au plan du limbe se poursuivent à la fois dans les cellules restées épidermiques et dans l'assise sous-épidermique nouvelle; ces mitoses se produisent en même temps que de nouvelles divisions perpendiculaires qui dédoublent encore les deux assises d'origine épidermique (fig. 27). Par la suite, les mitoses des cellules internes prennent des orientations variables, et il se forme ainsi un petit massif d'origine épidermique, en relief sur la surface du limbe. C'est ce petit massif qui devient visible au microscope binoculaire environ trois semaines après le bouturage et qui se développera pour former une bulbille (fig. 28).

Pendant ce temps, le parenchyme chlorophyllien ne manifeste généralement aucune activité mitotique, dans la région immédiatement sous-

jacente ; s'il s'y produit quelques divisions, elles ne sont pas localisées et se montrent peu nombreuses. On peut constater cette absence de prolifération avec une netteté particulière en faisant à la main des coupes longi-

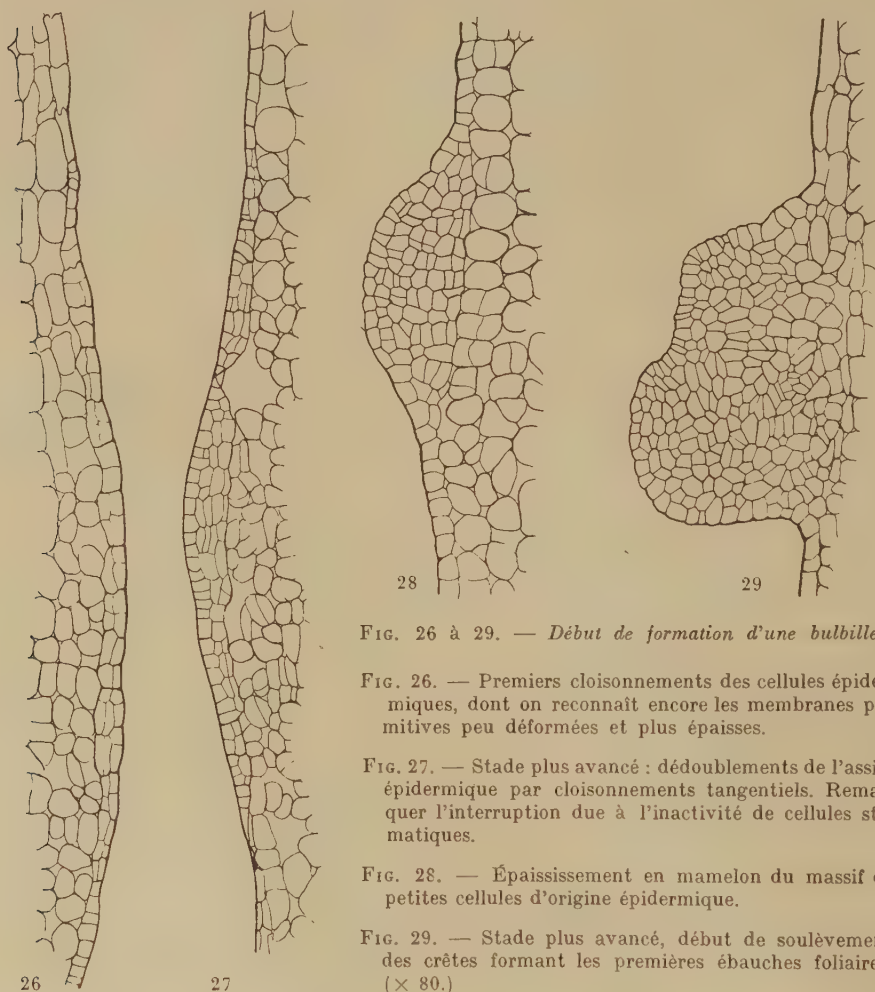


FIG. 26 à 29. — Début de formation d'une bulbille :

FIG. 26. — Premiers cloisonnements des cellules épidermiques, dont on reconnaît encore les membranes primitives peu déformées et plus épaisses.

FIG. 27. — Stade plus avancé : dédoublements de l'assise épidermique par cloisonnements tangentiels. Remarquer l'interruption due à l'inactivité de cellules stomatiques.

FIG. 28. — Épaississement en mamelon du massif de petites cellules d'origine épidermique.

FIG. 29. — Stade plus avancé, début de soulèvement des crêtes formant les premières ébauches foliaires. ($\times 80$.)

tudinales passant par les ébauches de bulbilles et en observant les tissus vivants, montés directement dans le liquide de RINGER (fig. 30). On voit alors les files cellulaires du mésophylle, riches en chloroplastes, se poursuivre sans perturbations sous le massif de cellules non chlorophylliennes qui donnera la bulbille, et qui interrompt seulement la continuité de l'épiderme.

Au sommet de ce massif, l'assise superficielle et quelques cellules sous-jacentes s'organisent bientôt en un méristème apical de tige ; en proliférant, elles édifient la jeune bulbille (fig. 29). On les voit, par exemple, sou-

lever les crêtes de cellules embryonnaires qui construiront les premières feuilles tuniquées (fig. 33). Certaines cellules internes s'allongent (fig. 33); quelques-unes se différencient en éléments conducteurs, dont les files se raccorderont soit avec des nervures de la feuille-mère, soit avec les tissus conducteurs des racines néoformées. Ces raccords se font avec le concours de cellules du mésophylle, mais ils ne sont pas incorporés dans le

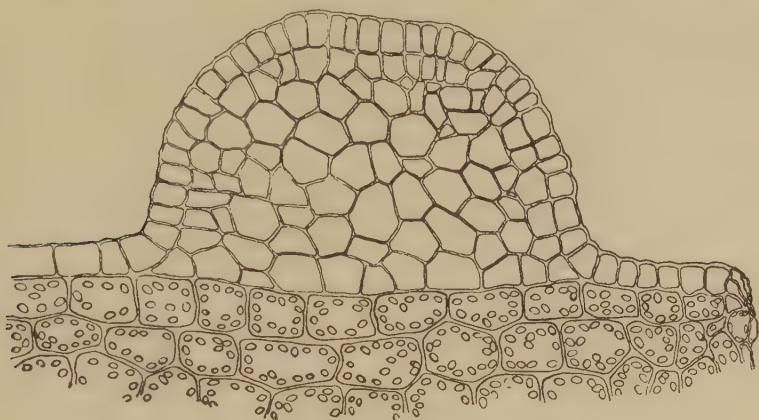


FIG. 30. — Dessin exécuté d'après l'observation vitale, montrant que la bulbille se forme sans le concours du mésophylle sous-jacent. ($\times 160$.)

futur bulbe après son isolement de la feuille : ce bulbe ne contient donc pas de lignées cellulaires issues du mésophylle.

En résumé, nous avons constaté que les jeunes bulbilles se forment exclusivement aux dépens de l'épiderme des feuilles bouturées ; elles sont exogènes. Ceci implique que des cellules épidermiques, après être revenues à l'état méristématique, aient proliféré et se soient ensuite différenciées en tous les types cellulaires d'une bulbille, qui donnera elle-même une plante complète et normale. Ces cellules ont donc retrouvé des potentialités qu'elles ne manifestaient plus dans la feuille *in situ* sur la plante-mère : elles se sont dédifférenciées physiologiquement aussi bien que morphologiquement, comme le montrera leur étude cytologique.

III. — Origine des racines.

Nous avons vu que, lors de la formation d'une bulbille, le parenchyme chlorophyllien sous-jacent ne manifeste généralement pas d'activité mitotique localisée juste à ce point. Ceci n'empêche pas que, dans une région plus ou moins voisine de la jeune bulbille, un petit nombre de cellules de ce parenchyme peuvent subir des mitoses répétées. Ces cloisonnements, qui apparaissent d'abord désordonnés (fig. 31 et 32), s'organisent bientôt (fig. 33), et c'est toujours un méristème radiculaire qui se différencie

ainsi dans le mésophylle. Ce méristème devient rapidement fonctionnel, et la jeune racine s'allonge en repoussant les tissus situés devant la coiffe (fig. 33). Dans la plupart des cas, elle perce les tissus lâches du mésophylle et sort à travers la surface de section du limbe, mais parfois aussi elle

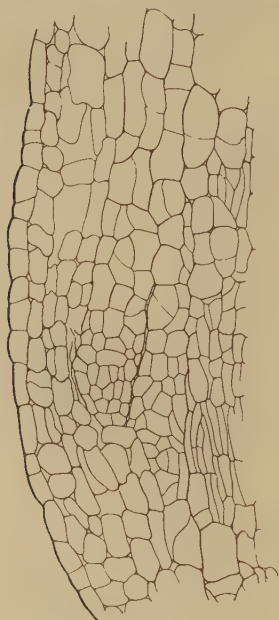


FIG. 31. — Premiers cloisonnements de cellules du mésophylle annonçant la formation prochaine d'une racine. On distingue encore les files cellulaires initiales, légèrement épaissies et marquées, çà et là, par l'aplatissement des lacunes. ($\times 80$.)



FIG. 32. — Ébauche plus avancée mais constituant un massif encore homogène. ($\times 80$.)

traverse l'un des deux épidermes. Cette racine et le méristème qui l'édifie paraissent tout à fait normaux.

Cette sortie des racines est toujours nettement postérieure à l'apparition des bulbilles, mais les premiers moments de leur formation, qui ne sont pas extérieurement visibles, se situent très peu après les premiers cloisonnements épidermiques.

A plusieurs reprises, nous avons trouvé sur une même coupe à la fois une jeune bulbille et une jeune racine, toutes deux se formant alors dans le même plan perpendiculaire au limbe. Ces préparations montrent d'une manière particulièrement claire les origines bien distinctes des deux néoformations et confirment le fait que les cellules chlorophylliennes sous-jacentes à la bulbille ne concourent pas à sa formation (fig. 33). Les ébauches du méristème radiculaire se forment au contraire exclusivement à partir de certaines d'entre elles. Plus tard, lorsque la bulbille et la racine ont différencié des éléments conducteurs, d'autres éléments du mésophylle

peuvent se transformer en éléments de tissus conducteurs qui raccordent les systèmes cribro-vasculaires de ces deux organes.

Lorsque la bulbille et la racine ne sont pas dans le même plan sagittal, les raccords exigent des remaniements plus importants; certains se font



FIG. 33. — Coupe sagittale de la base d'une bouture, passant à la fois par une bulbille (à droite) et par une racine (à gauche). Les origines différentes des deux néoformations se voient nettement. La bulbille montre un méristème apical complètement formé et deux ébauches foliaires. L'ébauche racinaire est déjà polarisée. L'élongation des cellules commence à se manifester à la base. A la pointe: début d'agencement des cellules en assises superposées. A la base de la bulbille, des cellules du mésophylle commencent à différencier des *raccordements conducteurs*. ($\times 80$.)

avec les nervures du limbe initial, et les cellules non chlorophylliennes des parenchymes conducteurs peuvent participer à leur édification.

Ces observations histologiques suffisent à montrer que les cellules du parenchyme chlorophyllien de la feuille de *Brimeura amethystina* se sont bien différenciées au double point de vue structural et physiologique, puisque les cellules méristématiques qui en dérivent possèdent réellement

les potentialités multiples des méristèmes radiculaires normaux et sont capables de se redifférencier en tous les types cellulaires d'une racine.

Les boutures de feuilles de *Brimeura amethystina* nous fournissent donc deux exemples de dédifférenciation, à partir de deux types cellulaires différents : cellules épidermiques et cellules chlorophylliennes du mésophylle. Les premières donnant des méristèmes de tiges qui construisent des bulbilles, les secondes des méristèmes de racines.

CHAPITRE IV

ÉTUDES CYTOLOGIQUES

Ces précisions histologiques nous permettent d'aborder maintenant les modifications cytologiques qui affectent les cellules adultes de l'épiderme ou du mésophylle lorsqu'elles se transforment en cellules méristématiques à caractères embryonnaires.

Nous étudierons d'abord l'évolution des cellules épidermiques, puis des cellules chlorophylliennes.

I. — La dédifférenciation des cellules épidermiques.

LES CELLULES ÉPIDERMIQUES NORMALES. — Les cellules épidermiques ont une forme parallélépipédique ; elles sont toutes allongées parallèlement au sens d'allongement de la feuille. Les membranes de ces cellules sont pecto-cellulosiques ; la membrane externe sécrète une cuticule assez épaisse et relativement coriace, qui se déchire parfois irrégulièrement sous le rasoir et gêne l'observation de l'épiderme. Une vacuole, unique, occupe tout le centre de chaque cellule, qui ne contient plus qu'une couche peu épaisse de cytoplasme pariétal renfermant quelques granulations lipidiques. Dans les cellules vivantes, cette vacuole est traversée par des trabécules cytoplasmiques très fréquentes. Le chondriome est formé de mitochondries, peu nombreuses, et surtout de chondriocotes flexueux. Ces derniers peuvent être simples et moyennement allongés, mais parfois ils s'allongent considérablement et forment des filaments très fins, sinueux et ramifiés (Pl. VII, fig. 1). Certains chondriocotes présentent souvent de petites vésicules dont le contenu n'a pas été déterminé ; nous nous sommes cependant assuré qu'il ne s'agit pas d'amidon, par la réaction à la solution iodo-iodurée, qui est négative (Pl. I, fig. 1 au bas). On ne trouve pas de plastes différenciés en dehors des cellules stomatiques.

Le noyau est généralement lenticulaire et accolé contre l'une des parois. Sa structure a retenu longtemps notre attention, car nous n'avons pu l'interpréter d'emblée avec certitude. Il serait hors du cadre de cet exposé de développer les travaux qui nous ont permis d'établir cette structure, et nous les publierons séparément. Il nous suffit ici de retenir que ce noyau possède un réticulum chromatique qui porte des granulations ayant la signification de chromocentres, mais de dimensions exceptionnellement grandes, rappelant celles des prochromosomes (Pl. XXX, fig. 8).

LES PREMIERS SIGNES DE L'ACTIVATION DES CELLULES ÉPIDERMiques : ÉVOLUTION DU NOYAU. — Les premières manifestations visibles de la reprise d'activité prolifératrice des cellules de l'épiderme sont fournies par le noyau. La quantité de chromatine s'accroît de plus en plus activement au cours des caryocinèses successives, car, d'une part, le volume des noyaux-fils ne diminue que très peu au cours de la différenciation, et, d'autre part, chacun de ces noyaux devient plus vivement colorable. En effet, le réseau chromatique apparaît de plus en plus dense, et les nœuds de ses mailles portent des granulations dont la taille augmente (Pl. XXX, fig. 9). Les chromocentres ne paraissent pas grossir sensiblement, mais ils deviennent beaucoup plus intensément colorables par la méthode de FEULGEN ; dans les noyaux des cellules adultes, ils se colorent souvent en rouge pourpre, tandis que dans les cellules du nouveau méristème ils prennent une teinte violette plus intense. Leur coloration devient également homogène et leur donne un aspect compact lorsque le noyau est bien quiescent, alors que les noyaux peu chromatiques des cellules différenciées présentent souvent des chromocentres vacuolisés. Les deux nucléoles télophasiques restent plus souvent séparés que dans ces derniers. Cette évolution des noyaux les rapproche beaucoup des noyaux méristématiques des racines, que nous avons eu l'occasion d'observer souvent pour en étudier la constitution.

Toutes les divisions nucléaires se font par caryocinèse, et nous n'y avons pas rencontré d'anomalies.

Nous avons vu que les premières divisions segmentent les cellules allongées de l'épiderme en cellules plus courtes, qui se divisent encore en éléments de forme cubique et même en cellules plus étroites que hautes. Pendant ce temps, les noyaux dont le volume ne diminue que très légèrement deviennent sphériques, quittent les parois où ils étaient accolés et se placent au centre des cellules. Ainsi, le rapport du volume du noyau au volume de la cellule s'accroît considérablement : nous nous trouvons déjà en présence d'un caractère important du « rajeunissement cellulaire ».

Plus précisément, les mesures cytologiques montrent que le volume du noyau, voisin de $350 \mu^3$ dans les cellules initiales, est de l'ordre de $300 \mu^3$ dans les cellules méristématiques. Le rapport $\frac{V}{V'}$ du volume nucléaire au volume cellulaire varie de $\frac{1}{100}$ environ à $\frac{1}{4}$.

Le rapport nucléoplasmique, ne tenant pas compte du volume vacuolaire, varie de $\frac{1}{30}$ à $\frac{1}{4}$, en admettant que l'épaisseur moyenne de la pellicule cytoplasmique, mesurée sur les cellules vivantes, soit de 1μ . Ce rapport augmente donc très sensiblement au cours de la différenciation.

ÉVOLUTION DU CHONDRIOME. — Dès le moment des premières mitoses, le chondriome se modifie sensiblement ; il accuse les changements d'orien-

tation de l'activité physiologique des cellules et s'y montre extrêmement sensible. Dès la première division de la cellule épidermique initiale, les chondriosomes se raccourcissent et s'épaississent considérablement. Ce raccourcissement est bientôt suivi de nombreuses divisions, par étranglement, des chondriocontes (Pl. VII, fig. 2). Au cours des premières mitoses, le chondriome prend ainsi l'aspect de bâtonnets relativement courts et plus rectilignes. Les chondriosomes continuent d'ailleurs à se segmenter pendant quelque temps en éléments de plus en plus réduits, qui se dispersent dans le cytoplasme (Pl. VII, fig. 3) ou qui peuvent rester transitoirement associés en files sinueuses (Pl. VII, fig. 4). Ces sortes de chapelets s'égrèneront par la suite et les chondriosomes isolés subiront de nouvelles bipartitions.

Tandis que le méristème s'édifie par prolifération des cellules épidermiques, le chondriome se disperse donc en une phase de plus en plus divisée ; il est alors constitué de très courts bâtonnets et de mitochondries granuleuses de plus en plus nombreuses (Pl. VII, fig. 5). Mais ces transformations se compliquent bientôt, et la dédifférenciation du chondriome est interrompue par des phénomènes nouveaux de différenciation. En effet, en même temps que les cellules épidermiques prolifèrent, les cellules du mésophylle et des parenchymes conducteurs situés juste au-dessus de la section se gorgent des produits d'élaboration de la photosynthèse, qui ne peuvent plus s'écouler vers la base de la feuille et vers le bulbe ; ils accumulent donc une quantité considérable de glucides, dont une partie est mise en réserve sous forme d'amidon ; le reste diffuse probablement dans tous les tissus de la base du fragment foliaire et sert, en particulier, à la nutrition des cellules de la future bulbille en voie de prolifération active. Ces glucides ne sont sans doute pas seuls à se concentrer à la base du limbe ; d'autres substances seraient à y rechercher, en particulier des auxines. Quoi qu'il en soit, on observe que les plastes, qui jusqu'ici ne se distinguaient pas du chondriome ordinaire, se différencient d'une manière précoce. On voit alors apparaître de petites vésicules claires au centre de certaines mitochondries et à l'extrémité ou sur le trajet de certains chondriocontes (Pl. VIII, fig. 1) ; ces derniers prennent les formes de petits têtards ou de masses creuses, formes caractéristiques des amyloplastés, bien connues depuis les travaux de GUILLIERMOND [111]. Les inclusions grossissent rapidement (Pl. VIII, fig. 2), et il devient bientôt aisé de s'assurer que nous avons affaire à des amyloplastés, par la méthode de coloration au réactif iodo-ioduré concentré de GUILLIERMOND. On peut ainsi, sur les préparations fixées au REGAUD et colorées à l'hématoxyline, obtenir sur le produit d'élaboration les teintes caractéristiques de l'amidon.

Cette amylogenèse revêt une ampleur considérable, même dans les cellules qui vont former le méristème de la bulbille, et les amyloplastés sont fortement distendus par leurs grains d'amidon, de sorte qu'ils ne constituent bientôt plus qu'une très mince pellicule autour de ceux-ci. Leur substance vivante, seule colorable par l'hématoxyline, devient très difficilement visible, et ils apparaissent sous forme de sphères incolores, repré-

sentant les grains d'amidon. Les préparations mitochondriales ne permettent bientôt plus de les distinguer avec netteté des petites vacuoles qui se forment simultanément dans les cellules en voie de différenciation. On y parvient alors par l'emploi de la technique de GUILLIERMOND utilisant l'action de la solution iodo-iodurée concentrée. On obtient ainsi des colorations jaune ocracé et brunes, avec passages à des teintes violacées, qui font ressortir les grains d'amidon. Ces nuances mettent bien en évidence la structure stratifiée des grains (Pl. VIII, fig. 3) et les distinguent fortement des vacuoles restées incolores. Presque tous sont des grains simples, chaque plaste n'en formant qu'un seul, ils sont ellipsoïdes ou ovoïdes. Ils acquièrent leur complet développement dans les tissus de la jeune bulbille, qui constitue avant tout un organe de réserves ; ils sont alors très volumineux et restent entourés du corps mitochondrial en forme de membrane très fine et difficile à mettre en évidence. Pour y parvenir, nous avons employé de préférence le fixateur de MEVES, qui nous a donné des préparations très contrastées (Pl. VIII, fig. 4).

Mais il nous importe surtout de remarquer que le développement des amyloplastés envahit même les cellules qui deviennent méristématiques. Dans ces cellules, on constate que les deux parties du chondriome évoluent indépendamment ; d'une part, les chondriosomes indifférenciés continuent à se segmenter de telle sorte que les mitochondries granuleuses sont de plus en plus prépondérantes (Pl. VIII, fig. 1, 2, 3) et, d'autre part, les amyloplastés s'accroissent rapidement (Pl. VIII, mêmes figures). On obtient ainsi un méristème assez particulier, puisqu'il contient des amyloplastés différenciés. Ceux-ci atteignent très vite leur taille maxima, alors que la bulbille est encore à peine ébauchée, mais ils n'entravent nullement l'activité mitotique des cellules en voie de prolifération. Au contraire, on distingue au sommet de l'ébauche un petit massif apical, particulièrement actif, où la fréquence des mitoses l'emporte bientôt sur l'amylogénèse, de sorte que la quantité d'amidon commence à diminuer dans cette région. Les amyloplastés de ces cellules deviennent alors de plus en plus petits, et tout se passe comme si les abondantes réserves glucidiques, accumulées dans les cellules méristématiques à peine formées, étaient utilisées sur place au cours de leur prolifération ultérieure ; leur formation ne serait pas alors une gêne pour cette prolifération, mais une circonstance favorable.

Finalement, lorsque la bulbille s'est quelque peu développée, elle comprend un « plateau » méristématique, limité à un petit massif dont les cellules n'ont plus qu'un chondriome très divisé, formé en majorité de mitochondries ainsi que de très courts bâtonnets, et où les deux lignées que constituent les chondriosomes et les plastés se confondent en un même état indifférencié.

ÉVOLUTION DU CYTOPLASME ET DES VACUOLES. — Lors des premières divisions des cellules épidermiques, le noyau, en augmentant de volume, comprime de plus en plus la partie médiane de la grande vacuole centrale. A la fin de la prophase, la figure de caryocinèse se gonfle ; le fuseau

achromatique en voie d'édification, qui arrive à toucher toutes les parois latérales de la cellule, étrangle cette vacuole, qui se trouve ainsi séparée en deux régions aux extrémités de la cellule. Après la constitution des noyaux-fils, le fuseau, devenu phragmoplaste, élabore la plaque cellulaire puis disparaît, et le cytoplasme se répartit dans chaque cellule-fille en une nouvelle couche pariétale limitant encore une vacuole centrale unique où le noyau forme un renflement comme dans la cellule-mère. Il peut ainsi se produire plusieurs mitoses sans que l'aspect des cellules-filles ne change autrement que par leurs dimensions (Pl. VII, fig. 3, en haut). On remarque toutefois que la pellicule cytoplasmique devient de plus en plus épaisse (Pl. VII, fig. 5, cellule de droite); il s'ensuit que les rapports du volume vacuolaire au volume de la cellule et surtout au volume du cytoplasme diminuent continuellement. Simultanément, les trabécules cytoplasmiques s'épaississent, tandis qu'elles deviennent plus courtes.

Dans les cellules étroites formées à la suite de divisions répétées, le noyau prend une position centrale et y demeure entouré de cytoplasme périnucléaire; les trabécules cytoplasmiques qui l'unissent alors au cytoplasme pariétal accroissent leurs dimensions transversales et forment bientôt de véritables nappes qui segmentent la vacuole initiale en plusieurs enclaves distinctes (Pl. VII, fig. 5, les 3 cellules où le noyau est représenté). Le cytoplasme devient de plus en plus abondant; il émet de nouvelles travées dans les vacuoles, qui se trouvent ainsi de plus en plus morcelées; elles ont d'abord tendance à devenir sphériques, leur taille diminue considérablement (Pl. VIII, fig. 1, les 4 cellules du haut et fig. 3), puis, lorsque l'évolution atteint son terme, elles peuvent en partie prendre des formes sinueuses et irrégulières traduisant une tension superficielle beaucoup moindre à la surface de séparation du cytoplasme et des vacuoles (Pl. VIII, fig. 1, les 2 cellules du bas). Cette diminution du volume paraît s'accompagner d'une concentration progressive des substances dissoutes dans les vacuoles. En effet, les fixateurs ne déterminent pas de précipités vacuolaires dans les cellules de l'épiderme, ni dans les cellules résultant des premiers cloisonnements; au contraire, les petites vacuoles des cellules devenues méristématiques renferment souvent des précipités sidérophiles après fixation (Pl. VIII, fig. 3).

La coloration vitale au rouge neutre permet de déceler un comportement analogue des substances colloïdales de la solution vacuolaire. On sait en effet que ce colorant basique entraîne la floculation des colloïdes par lesquels il est ensuite intensément adsorbé. Les cellules contenant une grande vacuole unique se colorent d'une façon homogène en rose pâle; on n'y trouve que rarement de petits précipités colorés vivement. Lorsque les cellules ont un système vacuolaire constitué de quelques vacuoles relativement spacieuses, elles se colorent en rose plus foncé que les précédentes et, dans certaines, le colorant produit un ou plusieurs précipités sphériques rouge-cerise, parfois très volumineux. Enfin, dans les plus petites vacuoles des cellules méristématiques, la pseudo-solution colloïdale, devenue semi-fluide, se colore vivement de manière homogène.

Nous retrouvons donc les aspects habituels des vacuoles caractéristiques des cellules méristématiques. Ce comportement suggère l'idée d'un accroissement progressif de la concentration des colloïdes vacuolaires.

Cependant il n'est pas démontré que cette concentration croissante des colloïdes soit seule en cause ; d'autres facteurs physiques peuvent intervenir pour modifier les aspects figurés de la coloration vitale, par exemple le point iso-électrique de ces colloïdes. En outre, des substances autres que des colloïdes peuvent s'accumuler dans les vacuoles et précipiter lors de la pénétration du colorant. En somme, les vacuoles semblent perdre de l'eau au cours de la dédifférenciation, mais nous ne pouvons parler ici que d'un accroissement de la concentration globale de leur contenu. L'aspect nettement moins fluide des vacuoles méristématiques et leur réfringence croissante, qui se rapproche de plus en plus de celle du cytoplasme et les rend de moins en moins visibles, confirment cette manière de voir.

LA MEMBRANE SQUELETTIQUE. — La membrane squelettique des cellules épidermiques étant peu différenciée et demeurant cellulosique, nous n'avons que peu de choses à en dire. Cependant nous avons vu que les premières mitoses cloisonnent ces cellules allongées sans trop les déformer, de sorte que leur contour reste très apparent pendant un certain temps. Ce contour se reconnaît aussi à l'épaisseur de la membrane, sensiblement plus grande que celle des nouvelles cloisons. Celles-ci, formées successivement à la suite des mitoses répétées, sont de plus en plus fines au fur et à mesure de la dédifférenciation, et les dernières sont semblables aux membranes des cellules méristématiques. Cependant les membranes cellulosiques primitives s'amincissent au cours de la prolifération, elles deviennent aussi fines que les nouvelles et prennent également les caractères des membranes des cellules méristématiques.

La cuticule persiste longtemps sans changement sur les cellules qui prolifèrent, puis elle se distend à la surface du mamelon méristématique de la future bulbille ; elle se trouve donc amincie considérablement au-dessus du méristème lorsqu'il est achevé. Les cellules épidermiques qui dérivent de ce méristème l'épaissiront de nouveau par la suite.

* * *

Nous avons donc assisté aux modalités de la transformation des cellules épidermiques adultes en cellules de méristèmes organisés de bulbilles. Ceci démontre leur dédifférenciation structurale de façon plus directe que l'étude histologique. Nous avons vu d'autre part que, ces méristèmes étant fonctionnels, leurs cellules ont acquis des potentialités histogénétiques étendues qu'elles ne manifestaient pas normalement ; elles se sont donc bien dédifférenciées morphologiquement et physiologiquement. Remarquons, en outre, que les cellules de la feuille intacte étaient vouées à mourir à la fin de l'été ; les cellules épidermiques transformées en cellules des bulbilles se maintiennent vivantes, au contraire, jusqu'à l'année suivante, lorsque la bulbille émet une première feuille, et certaines d'entre elles restent méristématiques et se perpétuent dans le nouveau bulbe.

Ainsi, ces cellules peuvent non seulement être rajeunies, mais encore éviter la mort et constituer une véritable lignée végétative qui concurrence la lignée germinale.

II. — La dédifférenciation des cellules du mésophylle.

Nous avons vu que les cellules du parenchyme lacuneux qui constitue le mésophylle des feuilles de *Brimeura* peuvent se dédifférencier pour donner naissance à des méristèmes radiculaires. Avant d'analyser leur évolution, nous décrirons rapidement les cellules normales de ce parenchyme chlorophyllien.

CELLULES CHLOROPHYLLIENNES DU MÉSOPHYLLE NORMAL. — La forme de ces cellules varie avec leur situation plus ou moins interne dans le limbe. Les cellules les plus périphériques, situées sous l'épiderme, sont presque isodiamétriques. Les plus internes sont plus allongées (fig. 25). De toute façon, elles présentent sensiblement la même structure cytologique. Le cytoplasme est réparti en une fine pellicule pariétale et limite une grande vacuole qui occupe tout le centre de la cellule (Pl. IX, fig. 1). Le chondriome comprend des mitochondries granuleuses, des bâtonnets et des filaments longs et flexueux. Les proportions de ces divers éléments varient avec les cellules et probablement aussi dans le temps, pour une même cellule. Le cytoplasme est également parsemé de nombreux chloroplastes, relativement volumineux et lenticulaires, ce qui leur confère un aspect différent lorsqu'ils sont vus de face (Pl. IX, fig. 1, à droite) ou de profil (Pl. IX, fig. 1, à gauche ; fig. 2, à gauche). Chacun d'eux élabore plusieurs petits grains d'amidon. Ça et là, on rencontre des chloroplastes porteurs d'un appendice filamenteux incolore, manifestation de leur origine mitochondriale (Pl. IX, fig. 1). Ils rappellent ceux que GUILLIERMOND [112] a décrits dans les cellules du mésophylle d'Iris. Le noyau est lenticulaire ou subsphérique, appliqué contre l'une des cloisons. Ce noyau présente la même structure que celui des cellules épidermiques.

LES PREMIERS SIGNES DE LA REPRISE D'ACTIVITÉ PROLIFÉRATRICE. — Au contraire des cellules épidermiques, les cellules du mésophylle situées près de la surface de section du limbe sont toutes intéressées de bonne heure par l'accumulation des substances élaborées par le parenchyme chlorophyllien. Dans toute cette région basale, il se produit d'abord un accroissement de taille des cellules, dont l'effet global est le gonflement observé au-dessus de la cicatrice. Les cellules allongées du mésophylle deviennent presque isodiamétriques ; leur plus petite dimension peut être doublée ou augmentée au moins de moitié.

Tandis que se produit cette croissance cellulaire, les chloroplastes accumulent de l'amidon. Les petits grains lenticulaires contenus normalement dans chacun de ces plastes grossissent considérablement et deviennent

de plus en plus apparents, ils distendent souvent la substance chlorophyllienne du plaste. Il en résulte macroscopiquement que la partie renflée du limbe paraît plus claire que le reste. L'amylogenèse se propage lentement vers des régions plus éloignées de la cicatrice, où elle est alors plus tardive et moins importante (Pl. IX, fig. 2 et 3).

A la suite de ces phénomènes, quelques divisions se produisent dans les cellules hypertrophiées, dès la première semaine, mais elles restent généralement peu nombreuses. Elles s'étendent bientôt aux cellules situées au-dessus du bourrelet cicatriciel et se montrent plus fréquentes à certains endroits très localisés de cette région, pour lesquels on peut déjà parler de prolifération cellulaire importante. Ces cellules contiennent encore de gros chloroplastes, renfermant des grains d'amidon plus ou



FIG. 34. — Deux mitoses (anaphase et métaphase) dans des cellules du mésophylle renfermant encore de volumineux chloroplastes, certains contenant des grains d'amidon. (Meves-Fuchsine.) ($\times 1\,200$.)

moins développés, et l'on voit souvent ces plastes entourer la figure achromatique lors des premières mitoses (fig. 34).

De véritables tissus de réserves se forment donc à la base de la bouture; ils sont constitués de cellules chlorophylliennes, dont les plastes sont gonflés de grains d'amidon, ce qui les fait paraître moins pigmentés. Ces cellules n'évolueront plus sensiblement, elles auront seulement tendance à s'appauvrir en chlorophylle et à s'enrichir en amidon. Immédiatement au-dessus de cette région, des phénomènes de prolifération très localisés prennent naissance, alors que les cellules commencent à être gagnées par l'amylogenèse qui s'étend depuis la surface de section. Cette amylogenèse va se poursuivre en même temps que la prolifération et devenir très intense dans ces groupes de cellules qui vont maintenant retenir notre attention, puisqu'elles constituent les cellules originelles des méristèmes radiculaires. Nous étudierons d'abord une première phase de leur évolution, qui concerne surtout les plastes, puis nous en distinguerons une seconde au moment où de véritables phénomènes de dédifférenciation commenceront à se produire.

LA PHASE AMYLOGÈNE. — Dans les premiers jours qui suivent le déclen-

chement de l'activité locale des cellules du mésophylle, les mitoses se continuent, tandis que les plastes forment de l'amidon. Nous laisserons de côté pour l'instant les modifications du noyau, que nous envisagerons dans leur ensemble à propos de la seconde phase, et nous nous attacherons à suivre les transformations des chloroplastes.

D'abord lenticulaires et noyés dans la substance lipoprotéique des plastes, les grains d'amidon se développent et deviennent ovales, ellipsoïdes ou sphériques. Leur taille augmente dans de telles proportions qu'ils boursoufflent les chloroplastes et forment des saillies de plus en plus prononcées à leur surface (Pl. IX, fig. 2, 3, 4, 5 et fig. 35, nos 7, 8, etc.). Ils restent néanmoins entièrement inclus dans la substance plastidiale, qui

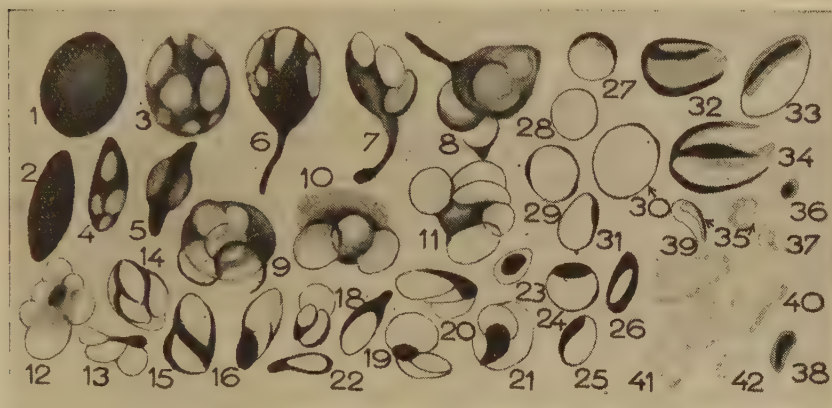


FIG. 35. — Évolution des chloroplastes au cours de la dédifférenciation des cellules du mésophylle de *Brimeura amethystina*. (Méthode de REGAUD, de MEVES et de GUILLIERMOND. Explications dans le texte.) ($\times 3\,000$.)

recouvre leur face externe d'une pellicule de plus en plus fine. Cette substance vivante du plaste subit des modifications chimiques certainement considérables, qui se traduisent sur les coupes colorées à l'hématoxyline par des différences de colorabilité, soit entre plusieurs plastes d'une même cellule (Pl. IX, fig. 3), soit entre divers territoires d'un même plaste; ce dernier est alors coloré d'une manière hétérogène (Pl. IX, fig. 2 et fig. 35, nos 9 et 10). Par la suite, les parties claires de ces éléments deviennent de moins en moins colorables et semblent disparaître dans le cytoplasme, ne laissant subsister qu'une pellicule très sidérophile qui entoure chaque grain d'amidon (fig. 35, nos 10, 11, 12). Il s'opère donc, dans la matière vivante du plaste, un remaniement qui se présente comme une épuration, avec expulsion dans le cytoplasme d'une partie de sa substance et condensation du reste autour des grains d'amidon en voie de formation. Ceci n'est pas sans analogie avec une sorte de rénovation succédant à une dégénérescence; de tels phénomènes ont été décrits à propos de la substance chromatique du noyau, par exemple dans le cycle

des Foraminifères, mais ils semblent mal connus. En ce qui concerne les chloroplastes en voie de transformation, ces faits sont confirmés par l'observation de certains d'entre eux, qui manifestent leur dégénérescence en ne formant pas d'amidon et se colorent très faiblement (Pl. IX, fig. 3) ; on assiste bientôt à la condensation dans ces plastes d'une substance plus sidérophile, aux contours d'abord indécis, mais qui se précisent lorsqu'elle se rassemble en granules ou en calottes sphériques pour se confondre au bout d'un certain temps avec les éléments indifférenciés du chondriome. Il est à remarquer que ces chloroplastes se trouvent ainsi dédifférenciés bien avant ceux qui forment de l'amidon. La figure 4 de la planche IX montre un groupe central de cinq d'entre eux, où commence à se produire la condensation de la substance mitochondriale ; le plaste inférieur porte déjà trois granules contigus, qui se colorent comme des mitochondries ; un autre plaste, situé plus vers le bas, présente une calotte sidérophile ; il en est de même d'un plaste de la figure 5, situé sous le noyau.

En général, la condensation de la partie sidérophile se fait en même temps que l'amylogenèse ; ces plastes se transforment donc en gros amyloplastés, contenant chacun plusieurs grains séparés et entourés par une coque mitochondriale parfois très mince (Pl. IX, fig. 3, 4 et 6, où ils sont vus de profil, et fig. 35, n^{os} 11 à 16).

Mais le terme d'amyloplastés, synonyme de « leucoplastes », que nous venons d'employer, ne saurait être justifié par la seule étude de préparations fixées et colorées ; de telles préparations ne permettent pas non plus d'expliquer les phénomènes curieux de condensation que nous avons décrits. L'observation vitale apporte des précisions complémentaires en montrant que, pendant cette phase de l'amylogenèse, les chloroplastes se dépigmentent lentement et se transforment effectivement en leucoplastes. Les régions les plus sidérophiles observées autour des grains d'amidon ne sont pas visibles sur les plastes vivants ; elles paraissent correspondre à une substance incolore de ces plastes ; au contraire, le pigment reste réparti dans toutes les régions peu colorables, de sorte que les cellules vivantes présentent, au milieu de grains d'amidon, des masses plastidiales chlorophylliennes plus ou moins déformées, rappelant les aspects des n^{os} 9, 10 et 11 de la figure 35. Peu à peu, ces territoires s'appauvrissent en chlorophylle, qui semble transformée en une substance incolore, et s'effacent dans le cytoplasme.

Ces observations nous conduisent à supposer que la substance sidérophile qui se rassemble dans le plaste autour des grains d'amidon est analogue à la substance lipoprotéique fondamentale commune à toutes les catégories de plastes et voisine des complexes qui constituent le chondriome ordinaire. Le chloroplaste se transformerait en leucoplaste en se séparant de la chlorophylle et des supports protéiques du pigment ; ces substances colloïdales différentes des complexes mitochondriaux seraient reprises par le cytoplasme.

Par la suite, les leucoplastes ainsi formés se divisent très souvent, chaque grain d'amidon se séparant avec la pellicule plastidiale qui l'entoure (fig. 35,

n^{os} 8, 12, 13, 19, etc.). Il en résulte que les cellules renferment bientôt de nombreux amyloplastés simples, ne contenant qu'un seul grain, au lieu des amyloplastés composés issus directement des chloroplastes (fig. 35, n^{os} 22 à 31, et Pl. IX, fig. 3, 4, 5, 7, 8). En outre, les plastés composés qui subsistent sont plus simples que précédemment.

L'amylogenèse se poursuit encore pendant quelque temps; les grains d'amidon grossissent et la partie vivante des plastés se fait de plus en plus mince autour d'eux. Il devient difficile de la mettre en évidence, mais nous nous sommes assuré, par l'emploi du fixateur de MEVES, qu'elle existe toujours. Nous avons reconnu ainsi qu'à aucun moment le grain d'amidon n'est abandonné dans le cytoplasme (Pl. X, fig. 1, 2 et 3 et fig. 35, n^{os} 28 à 31).

Ainsi, les cellules en voie de prolifération ne possèdent plus de chlorophylle lorsque l'amylogenèse dont elles sont le siège a atteint son terme. Jusqu'à ce moment, bien que des divisions se produisent déjà, la croissance cellulaire l'emporte, et nous avons encore affaire à de grandes cellules très riches en gros grains d'amidon ressemblant à des cellules de parenchyme de réserves, mais qui vont continuer à se diviser. Elles contiennent encore relativement peu de cytoplasme et une grande vacuole centrale, traversée par des trabécules cytoplasmiques (Pl. IX, fig. 1, 2, 3). Cependant, au cours de cette première période, les chondriosomes ont déjà évolué. Il est remarquable de constater au début de l'amylogenèse un accroissement du nombre des chondriocontes, qui deviennent souvent longs et flexueux (Pl. IX, fig. 4). Certains semblent naître aux dépens des territoires sidérophiles formés dans les chloroplastes; ils représentent alors des plastés dédifférenciés. Cet allongement des chondriocontes n'est cependant pas général et, de toute manière, il est passager. Bientôt en effet le chondriome ordinaire commence à se segmenter (Pl. IX, fig. 5, 7, 8), et lorsque les leucoplastes ont atteint leur taille maxima, les chondriosomes sont formés surtout de mitochondries et de très courts bâtonnets, tandis que les chondriocontes, peu allongés, y sont moins nombreux (Pl. IX, fig. 1, 2, 3).

C'est à ce moment que tous les constituants des cellules en question commencent nettement à se dédifférencier : ces cellules entrent dans une seconde phase de leur évolution.

LA PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION. — *Études caryologiques.* — Nous venons de voir que, tandis que les chloroplastes se transforment en leucoplastes, les chondriosomes commencent à se segmenter, ce qui est déjà un caractère de dédifférenciation, mais celle-ci est également amorcée dès ce moment par les modifications nucléaires. En effet, des mitoses se sont déjà produites pendant la phase amylogène. Elles vont être de plus en plus fréquentes jusqu'à ce que le jeune méristème soit formé. Malgré ces caryocinèses répétées, le volume des noyaux ne décroît que lentement. La diminution est sensible après les premières mitoses, puis le volume nucléaire devient constant, tandis que les

noyaux prennent une forme de plus en plus sphérique. Ce maintien suppose un enrichissement considérable des tissus en substances nucléaires. Enfin, bien que la prolifération s'accompagne toujours de croissance cellulaire, les cellules qui en résultent deviennent de plus en plus petites lorsque la période d'amylogenèse est passée ; le rapport du volume du noyau à celui de la cellule augmente donc dans de fortes proportions. Ainsi, pour les cellules du mésophylle normal, le volume nucléaire est de l'ordre de $450 \mu^3$; le rapport $\frac{v}{V}$ (Cf. p. 49) est voisin de $\frac{1}{150}$. Après les premiers cloisonnements, le volume nucléaire se stabilise autour de $250 \mu^3$ et dans les cellules méristématiques le rapport $\frac{v}{V}$ atteint une valeur voisine de $\frac{1}{4}$.

Le rapport nucléoplasmique, calculé comme précédemment, varie de $\frac{1}{25}$ à $\frac{1}{4}$ environ. Ces ordres de grandeur témoignent d'une augmentation sensible.

La réaction nucléale de FEULGEN permet en outre de constater que le nucléoplasme s'enrichit en chromatine, d'abord légèrement, puis d'une manière très intense. Ceci se reconnaît surtout au réseau chromatique, qui devient beaucoup plus dense, tandis que les filaments s'épaississent et forment à leurs nœuds des granulations plus fortes (Pl. XXX, fig. 11). On remarque également que les chromocentres, qui se colorent en rouge carminé dans les cellules adultes, prennent une teinte plus foncée et plus violacée et se colorent toujours de manière homogène, alors qu'ils apparaissent parfois comme vacuolisés avant la prolifération. En résumé, nous retrouvons une évolution très comparable à celle des noyaux épidermiques lors de l'édification des bulbilles. Les noyaux des méristèmes radiculaires néoformés sont tout à fait identiques aux noyaux des racines obtenues à partir des bulbes.

La dédifférenciation des leucoplastes et des chondriosomes. — A la fin de la période amylogène, la prolifération s'accélère en des régions très localisées, et les réserves amylacées commencent à être utilisées ; ce moment marque le début de la dédifférenciation des amyloplastés, qui se poursuivra pendant très longtemps. On observe d'abord une légère diminution de taille de la plupart d'entre eux, sans modification sensible de leur forme ; les préparations colorées à l'hématoxyline ne montrent de changements importants que plus tard, mais la méthode de GUILLIERMOND, employée après la technique de REGAUD (Cf. p. 47), permet de s'assurer que la digestion de l'amidon a déjà commencé. On constate en effet que le volume du plaste ne se colore pas tout entier par l'iode, seules les régions périphériques voisines du corps mitochondrial du plaste donnent encore la réaction de l'amidon (Pl. XII, fig. 1, 2 et 4) ; la partie restante de l'ancien grain d'amidon est occupée vraisemblablement par les

produits de son hydrolyse, ce qui explique le peu de variation de sa forme et de son volume. Il se constitue ainsi des enclaves plastidiales spéciales qui s'étendent peu à peu à tout le volume du grain primitif (Pl. XII, fig. 3, 4). Par la suite, ces produits de digestion sont utilisés et les vésicules se réduisent. Tandis que cette digestion s'opère, la substance vivante des amyloplastés, qui était devenue très mince et peu visible, semble se régénérer; elle se condense de nouveau sur des régions restreintes de la surface des grains, où elle constitue des cupules ou des granules sidérophiles très apparents (Pl. X, fig. 4-6). La plupart des grains d'amidon ou des vésicules résultant de leur hydrolyse continuent à se réduire, tandis que la substance vivante se ramasse de plus en plus en un ou plusieurs pôles (Pl. XI, fig. 1 et 2). Peu à peu, elle se résout en éléments chondriosomiformes, rappelant en un peu plus gros les mitochondries et les chondriocotes banaux (Pl. XI, fig. 3). Ces éléments se diviseront plusieurs fois et finiront par se confondre tout à fait avec le chondriome ordinaire. Il arrive parfois que certains amyloplastés ne se différencient que très tardivement, et il est possible de les trouver encore inchangés dans des cellules déjà nettement méristématiques à tous autres égards; on les trouve alors côte à côte avec des leucoplastés presque complètement différenciés (Pl. XI, fig. 4 et 5).

Dans d'autres cas, la substance vivante des plastés, après s'être condensée comme nous venons de le décrire, peut se séparer du grain d'amidon en voie de digestion. Les préparations habituelles montrent alors dans le cytoplasme de nombreuses enclaves incolores, simulant une catégorie spéciale de petites vacuoles. La technique de GUILLIERMOND permet de les reconnaître comme des grains d'amidon en voie d'hydrolyse; elle montre le reste de la substance amylacée au milieu ou autour de ses produits de désintégration (Pl. XII, fig. 3). Peu à peu la réaction à la solution iodo-iodurée s'affaiblit jusqu'à devenir imperceptible. On peut cependant la réaliser encore dans des cellules déjà méristématiques: l'amidon persiste donc très longtemps (Pl. XII, fig. 5 et 6). Dans ces cellules on assiste à la fin de l'hydrolyse (fig. 5, en haut à droite et dans la cellule inférieure, et fig. 6) et à la formation de petites vacuoles sphériques très particulières, temporaires, issues de cette hydrolyse, et sans rapports avec les vacuoles normales, déjà filamenteuses (fig. 5, cellule médiane inférieure et fig. 6).

Il résulte de ces observations que la différenciation des leucoplastés ne se fait pas simultanément pour tous ceux d'une même cellule; GUILLIERMOND a montré qu'il en était de même lors de leur différenciation; ce caractère les oppose aux chloroplastés, qui se différencient généralement tous simultanément. L'absence de synchronisme s'accuse d'une façon plus frappante dans certaines cellules du méristème, où l'on constate, alors que certains leucoplastés n'ont pas encore terminé leur amyolyse, que d'autres commencent déjà à redifférencier de petits grains d'amidon. Ce n'est qu'après de nombreuses observations que nous avons pu nous assurer de ce fait. Nous avons reconnu que ces derniers leucoplastés formeront les premiers grains d'amidon dans les tissus de la nouvelle racine issue du méristème. Dans les cellules voisines de celui-ci, ils se distinguent des autres par leur petite taille, la répartition plus homogène et l'épaisseur

plus grande de leur substance autour du grain naissant (Pl. XI, fig. 5, les plus petits grains, en particulier vers le centre de la figure).

Les chondriosomes continuent lentement leur différenciation ; commencée au cours de la phase amylogène, elle consiste en de nouvelles segmentations qui accentuent progressivement la prépondérance des mitochondries sur les chondriocotes. Ceux-ci sont de plus en plus courts (Pl. XI, fig. 1 à 5) ; cependant on en rencontre toujours de très longs (fig. 3), qui semblent en retard sur les autres et ont retenu notre attention. Ces chondriocotes sont en réalité des plastes nouvellement différenciés. La cellule de gauche de la figure 3 montre nettement des amyloplastes parvenus presque au terme de leur évolution et contenant encore un très petit grain d'amidon ; d'autres n'ont plus d'amidon mais présentent encore l'aspect de bâtonnets relativement courts et plus épais que le reste du chondriome. Ces bâtonnets s'allongent et s'amincissent (l'un d'eux en haut et à gauche de la cellule) ; ils prennent ainsi la forme de longs chondriocotes flexueux (fig. 3, sous le noyau de la cellule de gauche). La figure 5 de la planche XII montre également une cellule (médiane inférieure), contenant des plastes différenciés, en forme de grands chondriocotes, qui s'infléchissent autour des petites enclaves sphériques constituées par les produits de digestion de leur amidon.

De toute manière, ces éléments se segmenteront à leur tour en chondriocotes plus courts puis en mitochondries et en bâtonnets, dont sera formé tout le chondriome des cellules méristématiques (Pl. XII, fig. 6).

Les modifications du cytoplasme et des vacuoles. — Les cellules issues des premières mitoses ne montrent pas de changements importants dans les caractères du cytoplasme, qui reste limité à une couche pariétale très fine et renferme une grande vacuole unique. Ce n'est que pendant la dernière phase de la différenciation que cette vacuole se modifie. Après les premières mitoses, le cytoplasme devient plus abondant, la pellicule pariétale s'épaissit considérablement (Pl. X, fig. 1 à 6), et des trabécules de plus en plus grosses se tendent à travers la vacuole (Pl. X, fig. 1, 2, 3). Certaines sont assez importantes pour que le noyau, qui devient peu à peu sphérique, quitte la paroi où il était appliqué pour émigrer dans l'une d'elles ; il prend ainsi la position centrale, habituelle dans les cellules méristématiques (Pl. XI, fig. 1 : début ; Pl. XI, fig. 2, et Pl. XII, fig. 2). Autour du noyau, de nouvelles trabécules formées par le cytoplasme périnucléaire confluent bientôt en une cloison cytoplasmique, et la vacuole se trouve séparée en deux parties (Pl. XI, fig. 1 et 2) ; puis chacune de ces vacuoles est traversée par d'autres ponts cytoplasmiques et morcelée de nouveau (Pl. XII, fig. 1 et 2). Au fur et à mesure de la différenciation, tandis que le cytoplasme devient plus abondant, les vacuoles se font plus petites et plus nombreuses (Pl. XI, fig. 4 et 5) ; elles ont d'abord tendance à devenir sphériques, puis se déforment, comme étirées par les mouvements de cyclose, et beaucoup prennent les contours

sinueux caractéristiques des cellules méristématiques (Pl. XII, fig. 5 et 6).

En même temps que s'opère cette réduction du volume des vacuoles, leur contenu se concentre progressivement, de la même manière que lors de la dédifférenciation des cellules épidermiques (Cf. p. 101). Lorsque cette réduction est assez avancée, les fixateurs déterminent la floculation plus ou moins abondante des colloïdes en solution dans les vacuoles. Il se forme ainsi des précipités granuleux, peu colorables et de contours indécis (Pl. XI, fig. 1) dans les vacuoles encore peu concentrées, tandis que, dans les petites vacuoles à contenu plus concentré, celui-ci forme des précipités sphériques, de taille variable et généralement très sidérophiles (Pl. XII, fig. 5 en bas et à gauche, et fig. 6). Cette dernière phase de la dédifférenciation se produit pendant que les petites cellules résultant de la prolifération s'organisent en un méristème radiculaire. A la partie inférieure de ce massif, tournée vers la section de la bouture, les cellules se disposent en files semi-circulaires de plus en plus courbées, et la région médiane de ces arcs forme un massif d'initiales qui donnent naissance aux divers tissus d'une racine normale.

Les transformations de la membrane squelettique. — Les membranes des cellules du mésophylle sont pecto-cellulosiques et peu épaisses; elles ménagent de larges méats et des lacunes entre les cellules. Après les premiers cloisonnements, on les reconnaît à leur épaisseur plus grande que celle des nouvelles membranes, et aux méats, qui ne se forment plus entre les cellules filles. Par la suite, cette distinction devient impossible : les membranes initiales s'amincissent et se transforment en membranes méristématiques, toujours pecto-cellulosiques, tandis que les méats et les lacunes se réduisent par le rapprochement des membranes dû à la croissance des cellules et disparaissent tout à fait.

LES RACCORDEMENTS VASCULAIRES. — En dehors de ces phénomènes aboutissant à la constitution de méristèmes, les cellules du mésophylle peuvent concourir à la formation de raccords vasculaires entre les organes formés sur les feuilles (fig. 33). Il ne s'agit pas de dédifférenciation très profonde, mais de nouvelle différenciation dans un sens différent de la spécialisation primitive. Les cellules intéressées se divisent très peu et ne reviennent pas à l'état méristématique; leur structure s'adapte rapidement aux fonctions nouvelles qu'elles remplissent. Nous y trouvons cependant des phénomènes de dédifférenciation structurale, intéressant surtout les chloroplastes. Ceux-ci ne forment pas d'amidon, comme dans le cas précédemment étudié; ils se divisent, prennent des formes de têtards, de plus en plus grêles (Pl. XI, fig. 7) et finissent par se résoudre en longs chondriocotes.

* * *

Certaines cellules chlorophylliennes du mésophylle des limbes foliaires de *Brimeura amethystina* se sont donc transformées en cellules méristématiques; elles présentent un cytoplasme abondant renfermant de nombreuses petites vacuoles à contenu concentré, un noyau très chromatique,

sphérique ou subsphérique, situé au centre de la cellule, et un chondriome homogène, formé de mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets très fins, où l'on ne distingue plus les plastes des chondriosomes. Ces cellules sont assemblées en un méristème radiculaire parfaitement organisé et normalement fonctionnel ; la dédifférenciation structurale que nous venons de suivre correspond donc également à une dédifférenciation physiologique.

*
* *
*

Les deux exemples de dédifférenciation que nous ont fournis les boutures de feuilles de *Brimeura amethystina* présentent des aspects différents. Les cellules épidermiques n'ont pas de plastes différenciés, mais leur régression est interrompue par une amylogenèse intense, qui retarde la fin de la dédifférenciation du chondriome. Au contraire, dans les cellules du mésophylle, l'amylogenèse précède la dédifférenciation, et celle-ci ne commence que lorsque les chloroplastes, transformés en leucoplastes, perdent leur amidon. Mais, de toute façon, c'est toujours le chondriome qui manifeste les premières transformations morphologiques, qu'il s'agisse de la segmentation des longs chondriocotes épidermiques ou de la régression des plastes amylifères du mésophylle, et les modifications sensibles de l'appareil vacuolaire ne commencent que plus tard. Nous retrouverons donc le même ordre de régression que dans les cellules de Tomate, et même, chez une monocotylédone, nous constatons que la première phase de dédifférenciation conduit à une structure cytologique voisine de celle des cellules cambiales des dicotylédones, bien que l'agencement histologique en cambium ne se produise pas.

TROISIÈME PARTIE

LA DÉDIFFÉRENCIATION DANS LES CULTURES *IN VITRO* DU PARENCHYME LIBÉRIEN DE CAROTTE (*DAUCUS CAROTA* L., OMBELLIFÈRES)

CHAPITRE PREMIER

INTRODUCTION ET TECHNIQUES

I. — Introduction.

C'est avec les tissus du tubercule de Carotte que R.-J. GAUTHERET a réalisé pour la première fois la culture indéfinie des tissus végétaux. Au cours des recherches qui le conduisirent à ce résultat, GAUTHERET cultiva des tissus cambiaux de divers arbres, en particulier d'*Ulmus campestris* ; ces tissus produisirent des bourgeons à propos desquels l'auteur signala déjà l'existence de phénomènes de dédifférenciation, qu'il décrivit dans un article ultérieur [101] (1942).

D'autre part, étudiant l'action de l'acide indole- β -acétique sur les tissus du tubercule de Carotte, GAUTHERET constate que ce corps détermine l'élongation cellulaire à de très faibles concentrations de l'ordre de 10^{-10} à 10^{-8} ; il favorise la prolifération *in vitro*, à des concentrations relativement faibles encore, de 10^{-9} à 10^{-7} ; à de très fortes concentrations, de 10^{-5} à 10^{-3} , il produit la croissance isodiamétrique des cellules ; enfin, à des concentrations intermédiaires, de 10^{-7} à 10^{-5} , l'hétéro-auxine provoque la formation de racines, donc de méristèmes primaires.

C'est ce dernier processus qui a retenu notre attention, car il comporte des phénomènes de dédifférenciation.

II. — Techniques de culture des tissus cambial et libérien.

Nous ne donnerons ici que l'essentiel des techniques que nous avons employées, et nous renverrons le lecteur désireux de plus amples détails au manuel de R.-J. GAUTHERET [100] (1942).

La culture des tissus végétaux comprend deux séries d'opérations principales : le prélèvement des tissus sur les plantes et le repiquage des cul-

tures. Nous n'aurons à considérer ici que les opérations de prélèvement, car les phénomènes de différenciation se produisent dans les premières semaines après la mise en culture.

PRÉPARATION DU MILIEU DE CULTURE. — Le milieu fondamental est la solution nutritive de KNOP, dont la formule est la suivante :

Nitrate de calcium.....	1 gramme.
Nitrate de potassium.....	0gr,25
Sulfate de magnésium.....	0gr,25
Phosphate monopotassique.....	0gr,25
Chlorure ferrique	0gr,002
Eau distillée sur Pyrex.....	1 000 grammes.

Les trois premiers sels doivent être dissous d'abord ; on ajoute ensuite le phosphate monopotassique et on agite jusqu'à dissolution complète pour éviter la formation locale d'une solution concentrée de ce sel, ce qui produirait une précipitation de phosphates de calcium et de magnésium. On ajoute enfin le chlorure ferrique préalablement dissous. Il est indispensable, surtout lorsque les cultures doivent être longtemps poursuivies, d'utiliser de l'eau distillée sur Pyrex, l'eau distillée sur cuivre étant légèrement toxique.

Nous avons employé cette solution diluée de moitié et additionnée de 2 p. 100 de glucose.

Le milieu doit être solidifié par 1,3 p. 100 de gélose lorsque les tubes ne renferment pas de phase liquide et par 2 p. 100 dans le cas contraire. Après avoir été lavée pendant deux heures à l'eau courante, la gélose est essorée, puis ajoutée au liquide nutritif mis à bouillir dans une capsule de tôle émaillée. A la fin de la dissolution, nous ajoutons la dose voulue d'hétéro-auxine.

Pour cela, nous préparons une solution d'acide indole- β -acétique de concentration connue, par exemple contenant un milligramme d'acide par centimètre cube, en projetant la quantité nécessaire de cette substance dans de l'eau bouillante. Nous prélevons alors le volume convenable de cette solution et nous l'ajoutons au milieu.

Nous avons employé de fortes concentrations, échelonnées entre 10^{-4} et 10^{-6} . Le liquide bouillant est immédiatement filtré sur coton hydrophile, dans un grand entonnoir, puis coulé dans les récipients de culture, de la façon que nous allons décrire maintenant.

RÉCIPIENTS DE CULTURE ET LEUR PRÉPARATION. — Nous avons utilisé des tubes de verre ordinaire à fond rond, de 24 et de 30 millimètres de diamètre et d'une longueur de 16 à 20 centimètres.

Deux types de culture ont été réalisés au moyen de ces tubes. Dans le premier type, le milieu ne comportait qu'une seule phase constituée par la solution de KNOP gélifiée (fig. 36) ; dans le second type, nous ajoutions, en outre, une phase liquide constituée par la même solution nutritive, mais non gélifiée (fig. 37).

Dans le premier cas, les tubes doivent être remplis presque à moitié de la solution gélifiée chaude ; ils sont ensuite bouchés au coton cardé et stérilisés pendant vingt minutes à l'autoclave à 110° . Au-dessus de cette température, l'hétéro-auxine risque

d'être décomposée. Au sortir de l'autoclave, les tubes sont mis à refroidir en position inclinée à 60°, de manière à obtenir une surface en biseau après solidification du milieu (fig. 36).

Dans le second cas, les tubes ne sont remplis qu'au tiers, et ils sont fermés par un

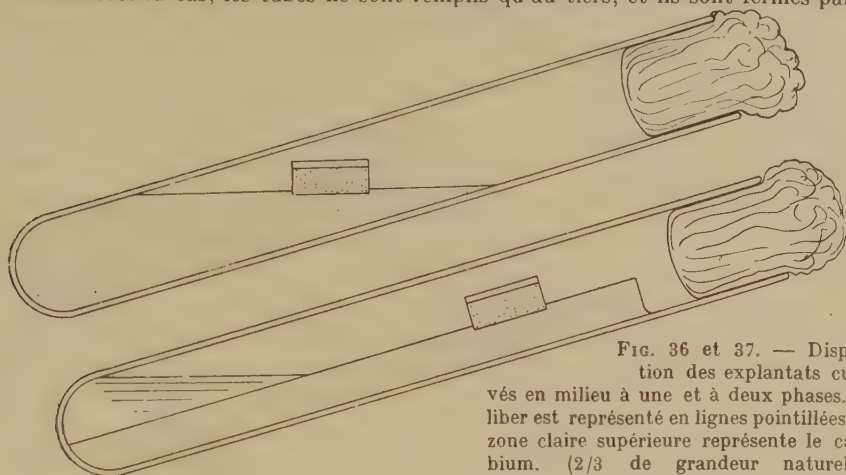


FIG. 36 et 37. — Disposition des explantats cultivés en milieu à une et à deux phases. Le liber est représenté en lignes pointillées, la zone claire supérieure représente le cambium. (2/3 de grandeur naturelle.)

double bouchon de coton cardé (fig. 38). On dispose d'abord un premier tampon d'un centimètre d'épaisseur, enfoncé à environ 2^{cm},5 à l'intérieur du tube, puis on coiffe ce tube d'un second bouchon semblable à celui des récipients sans phase liquide. La stérilisation se fait comme précédemment, mais on place ensuite les tubes *horizontalement*, de manière à obtenir un milieu solidifié en forme de segment cylindrique (fig. 38), limité du côté de l'ouverture par le tampon interne de coton cardé.

Le milieu liquide qui doit constituer la seconde phase est réparti dans plusieurs petits flacons d'ERLENMEYER, à raison d'un flacon pour quatre à six tubes, et stérilisé pen-

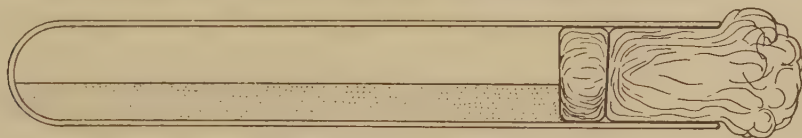


FIG. 38. — Disposition des tubes destinés aux cultures en milieux à deux phases pour la solidification du milieu gélosé : ce dernier est contenu par le tampon interne de coton cardé, qui sera éliminé par la suite. (× 2/3)

dant vingt minutes à 110°. On laisse ensuite refroidir. Pour ajouter la phase liquide, on opère sur la table de verre passée à l'alcool, et au voisinage d'un bec MÉKER, c'est-à-dire avec les précautions d'asepsie familières aux bactériologistes.

La série des manipulations est la suivante :

1° Déboucher l'un des flacons d'ERLENMEYER et flamber l'ouverture ; le reposer près du bec MÉKER ;

2° Enlever le bouchon extérieur du tube en le saisissant entre le dernier doigt replié et la paume de la main droite ;

3° Avec une pince flambée, retirer le tampon interne, puis verser un peu de milieu liquide dans le tube, après avoir passé dans la flamme les ouvertures du flacon d'ERLENMEYER et du tube ;

4° Enfin remettre le bouchon de coton externe sur le tube, après passage à la flamme.

Le flacon d'ERLENMEYER reste débouché pendant le temps de la prépara-

tion des quatre à six tubes auxquels son contenu est destiné. Ceci comporte un risque d'infestation, pratiquement inévitable, mais qui s'est montré négligeable si le flacon est maintenu au voisinage immédiat du bec MÉKER.

Les tubes de culture ainsi préparés sont prêts à recevoir les échantillons du prélèvement, ou *explantats*.

PRÉLÈVEMENT DES PIÈCES. — D'une manière générale, le prélèvement constitue la partie la plus délicate des cultures de tissus ; il est toutefois relativement aisé dans le cas des tubercules de Carotte, qui présentent des dimensions et des dispositions anatomiques favorables.

Structure anatomique schématique du tubercule normal. — Une coupe transversale dans un tubercule de Carotte montre que cette racine se compose de deux régions (fig. 39). La région centrale, d'un jaune verdâtre, est essentiellement formée par du parenchyme vasculaire, dans lequel se trouvent quelques vaisseaux disposés en lignes rayonnantes. Le tissu périphérique, rouge clair, représente à peu près exclusivement le liber. L'écorce et les régions les plus externes du cylindre central ont généralement disparu. Entre le parenchyme vasculaire et le parenchyme libérien se trouve une zone plus claire, relativement mince, qui constitue la zone cambiale.

Le parenchyme libérien est traversé çà et là par des ramifications cambio-vasculaires cylindriques représentant des traces d'anciennes radicules. En culture, ces traces radiculaires ont une forte tendance à produire de nouvelles radicules, d'où la dénomination de *rayons rhizogènes* qui leur a été donnée par GAUTHERET.

Nos recherches ont porté sur des cultures de la région externe des tubercules, comprenant la zone génératrice cambiale et le parenchyme libérien.

Stérilisation des tubercules. — Dans le sol, les tissus superficiels des tubercules sont contaminés par une foule de microorganismes. Il est nécessaire de stériliser tous ces tissus, mais l'opération ne doit pas affecter les tissus aseptiques sous-jacents.

La méthode de stérilisation, mise au point par R.-J. GAUTHERET, consiste à gratter soigneusement les tubercules et à les traiter par une solution d'hypochlorite de calcium dans une grande capsule ou dans un bocal, stérilisés et couverts.

Pour préparer la solution, il suffit de peser la quantité d'hypochlorite égale à 4 p. 100 du poids d'eau distillée employé et de faire dissoudre dans un grand verre à pied en agitant constamment pendant dix minutes. On emploie de préférence de l'hypochlorite « haut titre », qui est plus stable que le produit ordinaire. Il est bon de changer une fois le liquide au cours de la stérilisation.

Après un traitement d'une heure et demie à deux heures, les objets doivent être lavés par plusieurs bains successifs dans l'eau stérilisée à l'avance. Il a donc fallu stériliser 3 à 5 litres d'eau, dans un grand ballon bouché au coton cardé, à l'autoclave à 120° pendant vingt-cinq minutes. Le refroidissement de cette eau nécessite au moins une demi-journée.

Ces opérations se font dans la salle de culture, au voisinage du bec MÉKER. On commence par rincer le flacon et les pièces qu'il contient, à l'eau stérile, puis on fait un premier bain d'un quart d'heure, un second d'une demi-heure et un troisième où les tubercules resteront environ une heure. Au bout de ce temps, les objets sont prêts pour les opérations de prélèvement.

Prélèvement des tissus libérien et cambial. — On opère autant que possible sur une table de verre ou sur une paillasse en faïence. Le matériel nécessaire comprend :

- a. Une centaine de feuilles de papier-filtre stérilisé ;
- b. Un jeu (deux si possible) d'instruments de dissection, composé d'un bistouri, de deux couteaux à cerveau et d'une paire de pinces longues ;
- c. Un verre d'alcool et un tampon de coton.

Après avoir passé la glace de la table de verre à l'alcool, placer au milieu le bec MÉKER allumé, puis répartir le papier-filtre devant soi en trois piles. Déposer ensuite le panier de tubes à gauche, le bocal ou la capsule contenant les tubercules stérilisés à droite et, à proximité de ce récipient, le verre à pied contenant l'alcool à 96° ainsi que le tampon de coton.

La table étant ainsi installée, on procède à la mise en culture, qui comprend la suite d'opérations que nous allons décrire :

1° Se laver les mains et les avant-bras à l'alcool.

2° Tremper les instruments de l'un des jeux dans le verre d'alcool, les flamber et les mettre à refroidir sous la feuille supérieure de la pile de droite. Faire de même, s'il y a lieu, pour le second jeu et le placer sous la première feuille de la pile de gauche.

3° Se passer les mains à l'alcool, sortir un tubercule stérilisé de la capsule et l'essuyer avec la face inférieure de la première feuille de la pile centrale ; le placer ensuite sous la seconde feuille.

Les tissus superficiels de ce tubercule sont tués et décolorés par l'hypochlorite sur une épaisseur de 1^{mm},5 à 2 millimètres : il est nécessaire d'enlever les parties mortes.

4° Pour cela, au moyen d'un des couteaux à cerveau du premier jeu, éplucher le tubercule en le maintenant sous la feuille de papier qui le protège ; opérer sur un côté de la pile, puis déposer l'organe au centre.

5° A l'aide du second couteau à cerveau, découper le tubercule épluché en cylindres de 15 à 20 millimètres de hauteur et diviser chacun d'eux en deux moitiés à peu près semblables, par une section longitudinale passant par l'axe (fig. 39, b).

6° Se laver de nouveau les mains à l'alcool, puis maintenir un des deux demi-cylindres debout avec la main gauche et détacher le parenchyme vasculaire du cambium au moyen du bistouri.

Pour cela, repérer la zone cambiale, claire, située entre le parenchyme vasculaire et le parenchyme libérien, où elle constitue une surface en forme de demi-cylindre (fig. 39, c) ; enfoncer verticalement la pointe du bistouri entre la zone cambiale et le parenchyme vasculaire, parallèlement aux génératrices et en suivant l'un des bords de la surface hémicylindrique (fig. 39, b). La surface de séparation entre le parenchyme vasculaire

et le cambium est une surface de clivage facile, et l'on peut, en tournant légèrement le bistouri, décoller ces tissus. Conserver la partie externe en forme de demi-cylindre évidé, qui comprend le parenchyme libérien tapissé intérieurement par la zone génératrice (fig. 39, c).

7° Dans ce fragment, éliminer d'abord les parties blessées, puis découper, dans la fraction restante, des prismes d'une largeur de l'ordre du centimètre (fig. 39, d). Au besoin, rafraîchir la section externe.

Les échantillons sont alors prêts à être mis en culture.

8° Prendre les pincettes de la main droite et un tube de la main gauche, le déboucher à proximité de la flamme en saisissant le bouchon de coton

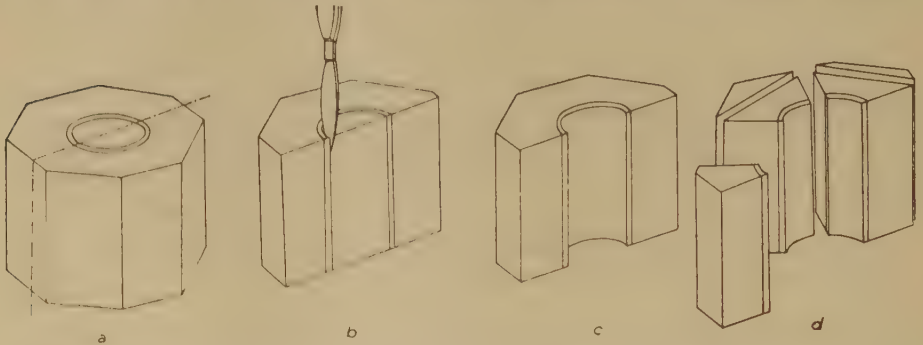


FIG. 39. — Schémas montrant la technique de prélèvement des explantats. (Explications dans le texte.)

entre le petit doigt recourbé et la paume de la main droite. Au moyen des pincettes, saisir un des échantillons préparés, passer l'ouverture du tube à la flamme et y introduire les pincettes ; déposer le fragment sur la surface solide du milieu gélosé ; passer à nouveau l'orifice du tube dans la flamme, ainsi que le coton, et reboucher le tube.

Cette opération doit être accomplie avec des gestes assurés et rapides, mais sans brusquerie. Replacer le tube dans le panier.

Les fragments sont toujours disposés en position couchée sur le milieu, la face morphologiquement externe du parenchyme libérien reposant sur la gélose (fig. 36 et 37).

9° Dans beaucoup de cas où nous avons employé un milieu sans phase liquide, il était nécessaire de capuchonner les tubes, afin d'éviter la dessiccation ; nous avons employé des capuchons de caoutchouc, stérilisés à sec. En réalité, ces objets ne conviennent pas à des cultures prolongées, pour lesquelles il est préférable d'employer les bandes de papier cristal préconisées par GAUTHERET, à défaut du papier d'étain, qui donne les meilleurs résultats.

Pour capuchonner, commencer par flamber l'extrémité du tube portant le bouchon de coton ; enfoncer celui-ci légèrement au-dessous de l'ouverture à l'aide de pincettes flambées et disposer le capuchon, avec les pincettes s'il est en caoutchouc, ou avec la main passée à l'alcool s'il est en papier cristal.

CONDITIONS DE CULTURE. — Les paniers sont couchés sur les planches inclinées d'une armoire métallique, de telle sorte que la position des tubes soit voisine de celle dans laquelle ils avaient été mis à refroidir après la stérilisation. Dans le cas du milieu à deux phases, cette inclinaison maintient la phase liquide au fond du tube. De toute façon, elle empêche les pièces de glisser, comme elles pourraient le faire si les tubes étaient verticaux.

Les cultures sont ainsi maintenues à l'obscurité, à la température de la pièce chauffée, voisine de 18° en hiver, et à la température ambiante pendant la belle saison. Lorsque, pendant l'hiver, la pièce n'était pas chauffée suffisamment, ou d'une manière constante, nous placions les cultures dans une étuve réglée à 18°.

III. — Techniques histologiques et cytologiques.

La difficulté de saisir certains moments de la dédifférenciation oblige à effectuer de nombreuses séries de fixations échelonnées.

Pour éviter les tâtonnements le plus possible, il est indispensable de choisir les échantillons intéressants en observant d'abord des coupes à la main montées directement dans le liquide de RINGER ou dans l'eau de source. Ayant ainsi reconnu les échantillons convenables, nous les débitons en tranches de 1 à 2 millimètres d'épaisseur et nous réparitionnons ces fragments entre les divers fixateurs.

Nous avons employé les mélanges de NAVACHINE, de HELLY, de REGAUD et de MEVES. Les tranches les plus fines étaient fixées par ce dernier, qui est très peu pénétrant. Les tissus étudiés se fixent généralement bien et facilement.

L'inclusion, par contre, demande beaucoup de précautions, car ces tissus, formés de grandes cellules très vacuolisées, à membranes souples, ont une forte tendance à se contracter et à se déformer au cours de l'imprégnation à la paraffine. On évite cet inconvénient en opérant comme il est dit page 43.

Les coupes se font très facilement lorsque les tissus se sont appauvris en amidon. L'épaisseur la plus convenable est très variable avec l'état de prolifération des cellules étudiées. Pour l'histologie, nous coupons à des épaisseurs de 5 à 20 μ . L'étude cytologique des grandes cellules de parenchyme était faite dans les meilleures conditions en coupant à 8-10 μ . La dédifférenciation de ces cellules aboutit à des éléments de taille décroissante et dont le contenu est de plus en plus condensé ; on ne peut en étudier la structure que sur des coupes de plus en plus fines, d'épaisseur variant entre 5 et 2 μ .

La coloration à l'hématoxyline ferrique de REGAUD a été notre coloration de base. Nous avons employé, en outre, la méthode de FEULGEN pour l'étude du noyau, et la fuchsine d'ALTMANN nous a été du plus grand secours pour l'étude des chromoplastes.

CHAPITRE II

ÉTUDES MORPHOLOGIQUES ET HISTOLOGIQUES

Avant d'aborder l'étude cytologique, il nous faut envisager les phénomènes histologiques qui se produisent dans les explantats, en particulier afin de reconnaître les catégories de cellules qui peuvent se différencier. Nous aurons donc à rechercher surtout l'origine des racines néoformées, mais nous commencerons par quelques observations morphologiques.

I. — La prolifération polarisée du tissu cambial.

Les modifications morphologiques et anatomiques des fragments de tubercule de Carotte cultivés *in vitro* ont été étudiées et décrites par GAUTHERET [90].

Cet auteur a montré que les surfaces libres des pièces se recouvrent bientôt d'un tissu duveté d'aspect blanchâtre. Ce tissu, très lâche, est formé de files de cellules qui se dégagent du tissu compact initial et constituent les *pseudothalles* de GAUTHERET.

Le tissu cambial compact s'accroît également en épaisseur, mais cette prolifération est polarisée : elle se manifeste avec beaucoup plus d'intensité à l'extrémité de l'explantat qui, dans la racine indemne, se trouvait du côté apical. Il se constitue ainsi un cal qui devient très volumineux. Des formations analogues se produisent aux extrémités externes des rayons rhizogènes.

II. — Les réactions du tissu libérien.

Il résulte de la position des pièces que c'est la surface externe du liber qui est en contact avec le milieu. Les fortes concentrations d'hétéro-auxine du milieu (10^{-4} à 10^{-6}) sont très toxiques, de sorte que ces régions externes sont nécrosées. A partir de ces assises, l'acide indole- β -acétique diffuse vers les régions plus éloignées, de sorte qu'il s'établit lentement un gradient de concentration. Au bout de quelque temps, il existe un niveau pour lequel la concentration est particulièrement *rhizogène*. A un même niveau, la concentration en hétéro-auxine croît avec le temps, au début de l'expérience ; il s'ensuit qu'elle est d'abord favorable à l'élongation, puis à la prolifération cellulaires ; elle atteint ensuite la valeur déterminant le pouvoir *rhizogène*. Dans les assises suffisamment voisines du milieu, la concentration augmente au delà de cette dernière valeur et provoque la croissance cellulaire isodiamétrique. L'accroissement de la concentration de l'hétéro-auxine a une autre conséquence : lorsqu'il se produit assez lente-

ment, après la constitution de méristèmes radiculaires, il inhibe le développement des jeunes racines, qui restent à l'état de primordiums dans le tissu libérien, souvent au milieu de cellules géantes.

En pratique, l'établissement progressif du gradient de concentration dans l'épaisseur du parenchyme libérien provoque d'abord des phénomènes de croissance cellulaire, qui intéressent les assises voisines du milieu, puis, immédiatement au-dessus, des phénomènes de prolifération très étendus qui retiendront plus longtemps notre attention.

Les cellules qui prolifèrent se segmentent de nombreuses fois, formant chacune un massif de petites cellules, sans que leur membrane squelet-

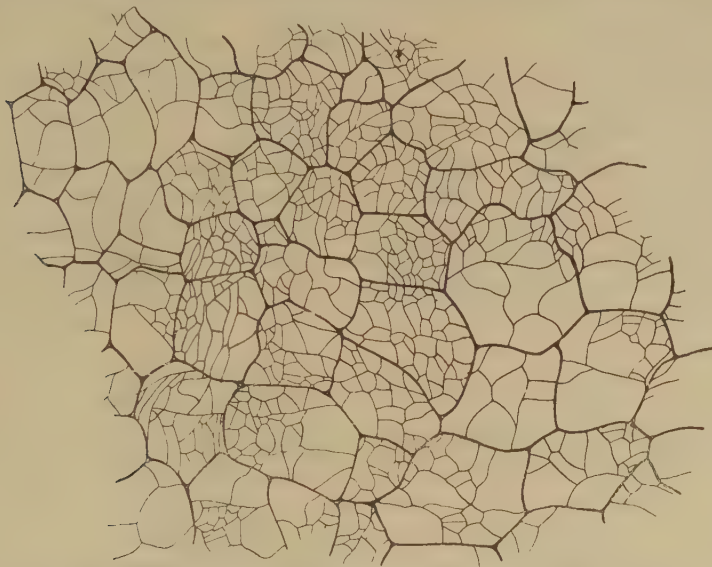


FIG. 40. — Reclouonnements des grandes cellules du parenchyme libérien lors de la formation du tissu néoplasique. On reconnaît les membranes plus épaisses et peu déformées des cellules primitives. ($\times 200$.)

tique initiale se soit déformée. La figure 40 montre une zone de ces petites cellules parmi lesquelles on reconnaît encore nettement les cadres non déformés des cellules originelles. Cette zone s'agrandit parfois considérablement, d'abord par segmentation de nouvelles cellules périphériques adjacentes, et encore indivises, puis par l'intervention, au bout de quelque temps, de croissance cellulaire s'ajoutant à de nouvelles mitoses. Il en résulte que les membranes initiales finissent par se déformer ; elles se distendent et disparaissent dans le tissu néoplasique. L'extension de ce tissu à petites cellules, par les phénomènes de croissance cellulaire, comprime les cellules primitives périphériques, qui sont déformées, froissées et partiellement déchirées, de sorte que les néoformations ont parfois tendance à s'individualiser.

Le *tissu néoplasique* ainsi constitué peut s'étendre soit en une zone continue, parallèle à la surface du milieu, soit en nodules isolés. De toute

façon, ce tissu est formé de petites cellules d'aspect très caractéristique. Certaines, au centre des nodules, acquièrent des épaississements membranaires, de formes réticulées, qui se lignifient bientôt. Ces cellules s'allongent parfois légèrement et manifestent des rudiments de différenciations vasculaires, mais leur disposition reste toujours anarchique, et elles demeurent bien vivantes. Ça et là, dans les tissus néoplasiques, des zones génératrices de type libéro-ligneux prennent naissance, en particulier autour des massifs de cellules réticulées.

Toutes les cellules du parenchyme libérien sont susceptibles de proliférer de cette manière ; cependant, chez certaines variétés de Carotte, il existe des différences de réactivité appréciables entre les divers éléments du liber. Très souvent les cellules entourant les canaux sécréteurs se montrent plus réactives ; il se forme alors des nodules néoplasiques plutôt que de véritables zones.

En somme, dans les cas les plus réussis, au bout de trois semaines de culture, les pièces sont constituées essentiellement de deux sortes de tissus doués d'activité prolifératrice : le tissu cambial, qui s'est accru considérablement, et le tissu néoplasique dont nous venons de décrire la formation. Nous verrons d'ailleurs que ces tissus ne sont pas sans analogie quant à leur structure cytologique. Des racines se forment à partir de *chacun de ces deux tissus*.

III. — La dualité d'origine des racines.

On observe deux poussées successives de racines, d'aspects différents ; la première survient après un temps parfois très court, de dix à quinze jours ; elle est souvent la plus abon-

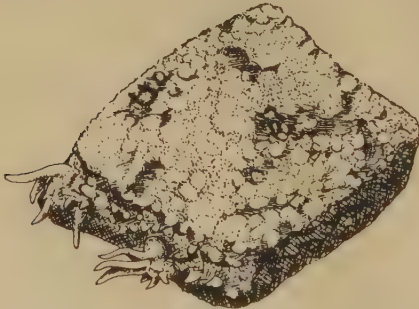


FIG. 41. — Explantat ayant produit des racines dans la région moyenne et externe du liber (la face cambiale est la face supérieure, la face inférieure reposait sur le milieu gélosé). ($\times 2$.)

dante. Ces racines sont toujours d'origine cambiale, elles proviennent du cal ou des rayons rhizogènes. Elles se forment souvent sur tout le pourtour de la face supérieure du fragment, et dans ce cas elles se trouvent d'emblée dans l'atmosphère humide du tube, où elles s'allongent rapidement et différencient une assise pilifère bien fournie. Ces premières racines se recourbent vers le milieu nutritif, et leur pointe l'atteint bientôt ; l'activité mitotique du méristème est alors plus ou moins arrêtée, suspendue par la

forte concentration du milieu en hétéro-auxine. L'allongement de la racine cesse également ou est très ralenti, et très souvent la croissance isodiamétrique des cellules lui succède et donne naissance à des bourrelets dans la région apicale.

D'autres racines se forment sur le trajet des rayons rhizogènes et sur la surface du cambium tournée vers le liber ; ces racines ne sont pas immédiatement visibles ; avant cela, elles doivent traverser une épaisseur plus ou moins grande de parenchyme, dont elles refoulent et écrasent les cellules.

Malgré leur sortie un peu tardive, ces racines ne doivent pas être confondues avec celles qui naissent généralement plus tard, par dédifférenciation d'îlots cellulaires du tissu néoplasique, et n'apparaissent pas avant la troisième ou la quatrième semaine suivant la mise en culture.

Il est cependant difficile, dans bien des cas, de reconnaître l'origine des racines internes ; ceci est dû surtout au fait que les proliférations du tissu cambial des rayons rhizogènes ressemblent souvent au tissu néoplasique, à tel point qu'avant de commencer des recherches cytologiques il nous a fallu démontrer avec rigueur que certaines racines sont bien d'origine libérienne. Pour cela, nous isolions un fragment d'explantat contenant les ébauches radiculaires, et nous le taillions en forme de parallélépipède ne contenant plus de zone cambiale. Nous pratiquions ensuite des coupes parallèlement aux cinq surfaces des nouvelles sections (fig. 42). Les rayons rhizogènes étant toujours en relation avec le cambium, si les ébauches ont

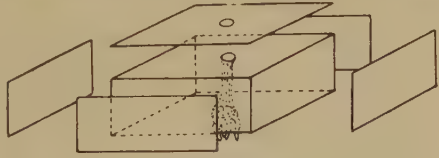


Fig. 42. — Schéma de démonstration de l'origine des racines néoformées. La face inférieure du fragment reposait sur la gélose. A la face supérieure, le cambium a été éliminé par une section horizontale. (Explications dans le texte.)

pour origine un rayon rhizogène, l'une au moins des séries de coupes doit en montrer la trace (fig. 42, coupe supérieure). Si aucune des séries de coupes ne montre de tissu cambial, nous sommes assurés que les ébauches proviennent du tissu libérien. Nous avons pu démontrer ainsi qu'il existe bien des racines d'origine libérienne.

La formation de ces dernières est beaucoup plus capricieuse en apparence que dans le cas précédent ; elle varie considérablement avec l'état des tubercules, pour un même tubercule avec la région du prélèvement, avec les individus d'un même lot et surtout avec les variétés de Carottes. Les tubercules vendus à la fin de l'hiver sous l'étiquette de « Carottes d'Algérie » se montrent particulièrement réactifs. Dans les cas favorables, les racines libériennes se forment en grand nombre au sein des massifs néoplasiques ; elles dérivent donc indirectement de cellules du parenchyme libérien (fig. 41).

Les deux sortes de racines, cambiales et libériennes, ont une structure normale, mais les racines libériennes se distinguent presque toujours par leur diamètre sensiblement moindre que celui des racines cambiales. En outre, ces dernières ont une croissance plus rapide, tandis que les racines néoplasiques sont toujours plus chétives ; d'ailleurs, par suite de l'action inhibitrice de l'hétéro-auxine, leur croissance est souvent « bloquée » avant qu'elles aient percé la surface de l'explantat.

Ce sont ces dernières racines, nées indirectement des cellules très différenciées du parenchyme libérien à la suite de phénomènes de dédifférenciation très profonds et très complexes, qui retiendront particulièrement notre attention.

IV. — L'édification des méristèmes radiculaires.

Les premiers indices de la néoformation des racines se manifestent par une recrudescence de l'activité mitotique dans certaines régions très circonscrites du tissu néoplasique. On observe alors qu'un petit nombre

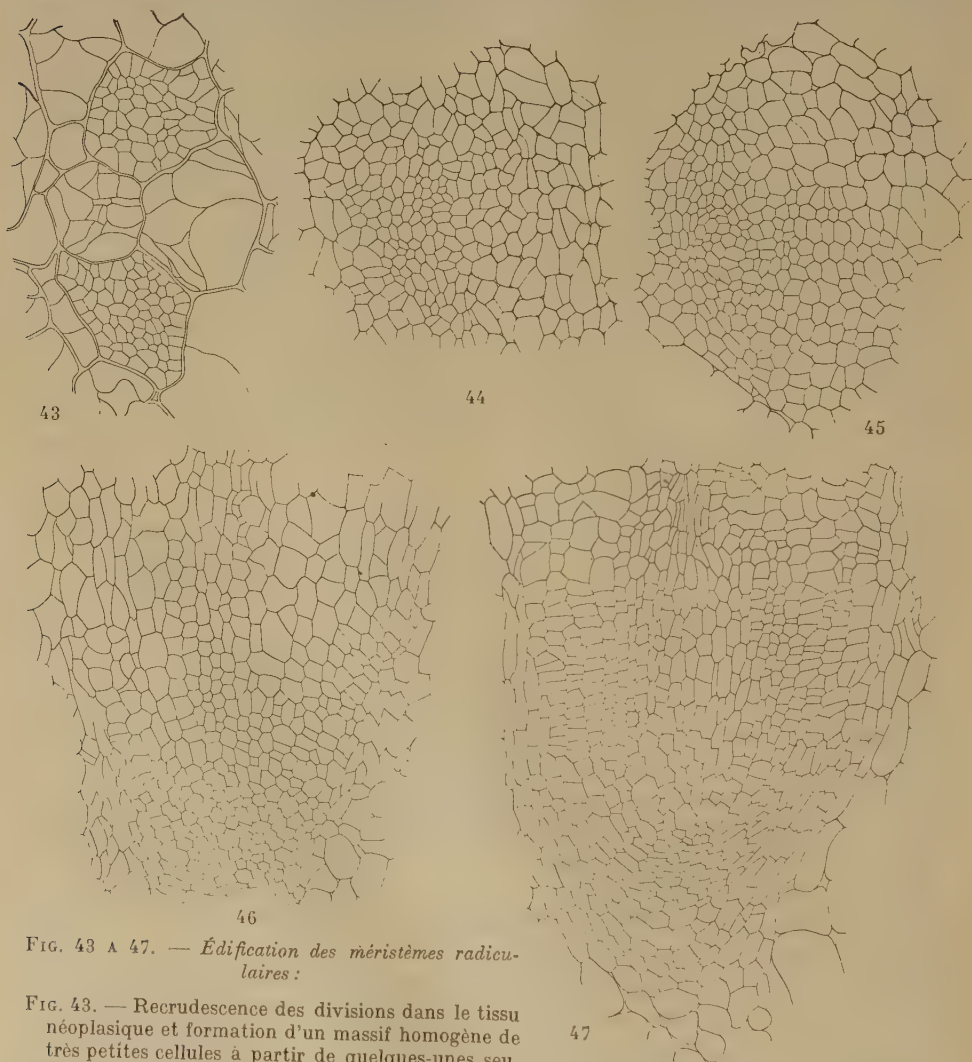


FIG. 43 A 47. — Édification des méristèmes radiculaires :

FIG. 43. — Recrudescence des divisions dans le tissu néoplasique et formation d'un massif homogène de très petites cellules à partir de quelques-unes seulement des cellules primitives, dont les membranes sont encore reconnaissables.

FIG. 44. — Premiers symptômes d'apparition de la polarité : divisions plus actives vers la gauche.

FIG. 45. — Début d'agencement des cellules en files longitudinales, dans la région basale, et en assises concentriques dans la région apicale.

FIG. 46. — Stade plus avancé : elongations cellulaires dans la région basale.

FIG. 47. — Méristème complètement constitué : agencement des assises apicales concentriques, différenciation de la coiffe. Remarquer le massif désordonné des initiales, qui se segmentent en tous sens. ($\times 200$.)

de cellules de ce tissu subissent des cloisonnements répétés et donnent naissance à de très petites cellules constituant des massifs d'apparence homogène, disons « isotropes » en empruntant un mot des physiciens. Souvent, on constate que les petits groupes d'initiales correspondent chacun aux éléments issus de la segmentation d'une ou de deux grandes cellules du parenchyme libérien primitif (fig. 43).

Les cloisonnements peuvent se poursuivre pendant quelque temps d'une manière désordonnée, mais en général on décèle très tôt les premières ébauches de l'organisation du méristème. Le premier signe de cette édification est l'apparition précoce d'une polarité dans le massif

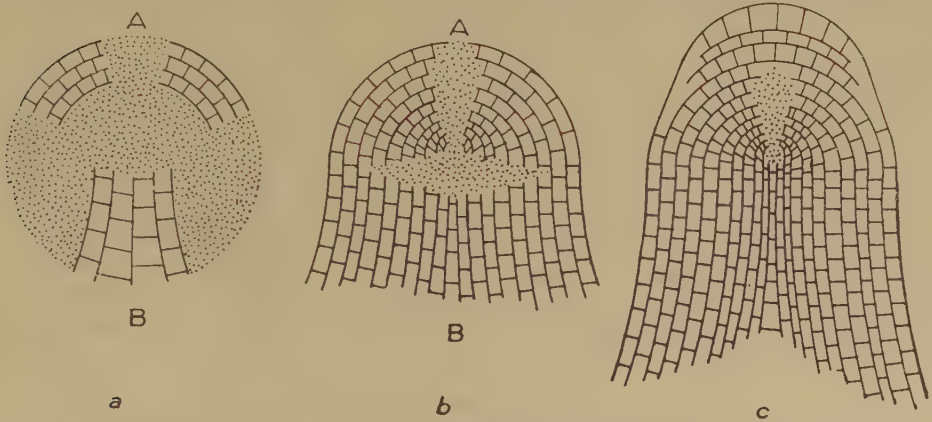


FIG. 48. — Schémas résumant les processus d'édification des méristèmes radiculaires. — A, région apicale; B, région basale. (Explications dans le texte.)

de petites cellules qui, d'isotrope qu'il était, devient « anisotrope » (fig. 44 et 45). L'apparition de la polarité est due essentiellement à une double orientation des mitoses : vers l'un des pôles du massif, que nous appellerons le *pôle basal*, les cloisonnements s'orientent tangentielllement au contour de ce massif (fig. 48 a, B), tandis qu'au pôle opposé, qui sera le *pôle apical*, ils s'orientent perpendiculairement (fig. 48 a, A).

Les cellules du pôle basal subissent en outre, de manière très précoce, des phénomènes d'élongation cellulaire ; il en résulte que le pôle apical est repoussé dans le tissu néoplasique et commence à comprimer les cellules qui se trouvent devant lui. L'ensemble de la figure s'allonge et la région basale se différencie très nettement (fig. 45). Les tissus de cette région se raccordent progressivement avec le tissu néoplasique initial, tandis que, dans la région apicale, la transition avec le tissu néoplasique est beaucoup plus rapide et moins ménagée ; cette transition disparaît bientôt par suite du refoulement des cellules frontales. Les phénomènes d'élongation deviennent rapidement prépondérants dans la région basale, où les mitoses cessent presque complètement.

Par contre, les divisions se font de plus en plus nombreuses au pôle apical, et leur orientation, perpendiculaire à la surface de l'îlot de petites

cellules, détermine l'édification d'assises hémisphériques concentriques (fig. 46 et 48 *a* et *b*, en A). Les bords de ces hémisphères se raccordent avec les files cellulaires issues du pôle basal. Toutefois, il subsiste toujours dans la région subapicale un petit massif de cellules qui paraissent disposées sans ordre (fig. 48, *c*). Ce massif subapical constitue le groupe des initiales méristématiques des diverses régions de la future racine : coiffe et assise pilifère, écorce, cylindre central. L'ensemble constitue un méristème racinaire normalement organisé (fig. 47).

CHAPITRE III

ÉTUDES CYTOLOGIQUES

Les cellules du parenchyme libérien qui se dédifférencient en cellules méristématiques de racines sont très évoluées ; elles renferment une mince couche de cytoplasme pariétal, un noyau très petit, des chondriosomes très fins et des plastes porteurs de gros cristaux de carotène en plus de nombreux grains d'amidon. Une grande vacuole centrale occupe presque tout le volume cellulaire. La membrane squelettique de ces cellules ne comporte rien de bien spécial, mais les éléments de leur protoplasme présentent des caractères de différenciation très avancée. Il s'ensuit qu'elles ne se dédifférencient pas volontiers et que les phénomènes mis en œuvre sont relativement complexes. Nous avons tenté pendant longtemps de les comprendre en étudiant les manifestations plus ou moins localisées qui se produisent lors de la formation des premières ébauches méristématiques, mais ce fut en vain, car elles sont précédées de phénomènes préliminaires qui affectent déjà profondément la structure de toutes les cellules du tissu libérien. Avant de les décrire, nous examinerons la constitution des cellules méristématiques primaires, puis des cellules de la zone génératrice libéro-ligneuse des racines normales. Nous suivrons ensuite la différenciation des cellules parenchymateuses du liber, afin de nous faire une idée de leur structure.

Nous pourrions alors aborder leur dédifférenciation, qui se fait en plusieurs étapes. Après le prélèvement des explantats, on observe d'abord des phénomènes de croissance cellulaire non accompagnée de divisions. Au cours de cette première phase, le début de la dédifférenciation est marqué par la disparition des réserves amylacées des plastes. Ensuite surviennent les premières mitoses, dont nous décrirons les figures souvent remarquables. Elles annoncent le début d'une seconde phase, qui sera caractérisée par une activité prolifératrice étendue à de nombreuses cellules, et par la dédifférenciation des chromoplastes. Certaines cellules subissent ensuite une troisième phase de rajeunissement, qui intéresse principalement le noyau, le cytoplasme et les vacuoles.

Nous décrirons donc successivement ces trois phases.

I. — Structure des cellules méristématiques primaires, des cellules cambiales et des cellules du parenchyme libérien normal.

Des coupes longitudinales très fines ($2\ \mu$) exécutées dans la région terminale des racines de très jeunes germinations montrent des files de cel-

lules très petites, serrées les unes contre les autres, renfermant un cytoplasme très abondant et un gros noyau, situé au centre de chacune d'elles (fig. 49).

La technique de REGAUD permet de déceler dans le cytoplasme de nombreuses mitochondries granuleuses et de très courts bâtonnets. Ces éléments forment un chondriome homogène, dans lequel on ne distingue pas de plastes différenciés. Le cytoplasme contient, en outre, de très petites vacuoles, dont beaucoup sont peu apparentes, car elles sont

très réduites. Ces vacuoles sont granuleuses, ou bien elles ont des formes allongées, filamenteuses ou ramifiées. Certaines renferment des précipités, dus au fixateur et conservés lors de l'inclusion ; ils se colorent parfois énergiquement par l'hématoxyline.

La réaction de FEULGEN montre dans les noyaux un réseau chromatique léger portant aux nœuds des chromocentres relativement gros et vivement colorés.



FIG. 49. — Cellules méristématiques primaires d'une racine normale de plantule. (Regaud-Hématoxyline.) (Explications dans le texte.) ($\times 4\,000$.)

Nous retrouvons en somme les caractères habituels des cellules méristématiques : rapport nucléoplasmique élevé, noyaux riches en chromatine, cytoplasme abondant, d'aspect très condensé, vacuoles nombreuses et très petites, à contenu apparemment concentré, enfin chondriome en très petits éléments, nombreux et d'aspect uniforme, sans plastes différenciés.

De ces cellules dérivent plus ou moins directement les cellules de la zone génératrice libéro-ligneuse. Leur évolution cytologique ne semble pas avoir été suivie, à notre connaissance ; cependant, les cellules du méristème secondaire sont très différentes des cellules apicales, bien que dans

le tubercule de Carotte les cellules génératrices soient relativement peu allongées, leurs dimensions étant environ de $70 \times 10 \times 5 \mu$. Ce sont des éléments parallélépipédiques renfermant une grande vacuole entourée d'une pellicule pariétale de cytoplasme, peu épaisse. Le noyau est petit et lenticulaire, appliqué contre la membrane ; il contient un réseau chromatique très léger, portant des granulations plus colorables, et renferme un nucléole provenant de la fusion de deux nucléoles télophasiques. Le cytoplasme est légèrement épaissi autour du noyau, et l'ensemble fait hernie dans la vacuole.

Les cellules cambiales ne contiennent pas de plastes différenciés ; ceux-ci se confondent parfaitement avec les chondriosomes ordinaires, et les deux ensembles sont formés de mitochondries granuleuses, qui peuvent exister seules ou côte à côte avec de courts bâtonnets. Enfin, les cellules cambiales sont très pauvres en granulations lipidiques.

Dans les racines très jeunes, on peut suivre la différenciation des cellules externes de ce méristème secondaire en cellules de parenchyme libérien. On observe leur transformation en grandes cellules isodiamétriques par accroissement de leurs dimensions transversales. Presque tout le volume de ces cellules est occupé par la vacuole ; le cytoplasme reste réparti en une couche pariétale de plus en plus fine. Les granulations lipidiques deviennent plus abondantes et plus grosses. Les cellules banales du parenchyme libérien en contiennent généralement beaucoup, mais elles se montrent bien plus nombreuses lorsqu'on observe des régions de plus en plus proches des cellules sécrétrices. Certaines de ces inclusions donnent les réactions des lipoides, ou graisses phosphorées ; en particulier la réaction de SMITH-DIETRICH est positive pour beaucoup d'entre elles, mais d'autres granulations semblent constituées par des essences ; ces dernières deviennent très grosses et très nombreuses autour des canaux sécréteurs ; toutefois, il en existe dans toutes les cellules du parenchyme. Nous désignerons l'ensemble de ces granulations, lipoides et essences, toutes colorables par le soudan III et le noir-soudan B, par l'expression de *granulations liposolubles*.

Le noyau (Pl. XXX, fig. 12) ne change guère de forme ni de dimensions au cours de la différenciation, mais il a tendance à s'appauvrir en chromatine.

Les éléments du chondriome des cellules cambiales se différencient en deux ensembles ; les uns évoluent peu, ils restent à l'état de mitochondries ou s'allongent en chondriocontes, généralement assez courts ; les autres se différencient plus remarquablement : ils se transforment en chromoplastes.

La structure des chromoplastes, dans le tubercule âgé, doit retenir particulièrement notre attention. Leur évolution a été étudiée déjà par A. GUILLIERMOND dans les cellules de très jeunes Carottes [110]. Les jeunes plastes accumulent d'abord de l'amidon et se transforment en amyloplastés ; la plupart différencient ensuite des cristallites de carotène aux formes les plus variées. Nous avons repris cette étude dans les tubercules plus âgés, où la formation du carotène peut suivre de très près celle de l'amidon ; cependant, les chromoplastes de Carotte se présentent toujours comme des amyloplastés se chargeant secondairement de carotène. Finalement, chacun des plastés, observé dans les tissus frais, porte de nombreux grains d'amidon composés, agrégés en une masse de contour compliqué, et en général un cristallite de carotène, toujours en lame aplatie, mais qui peut revêtir les formes les plus diverses : losange, parallélogramme, aiguille due à l'enroulement en cornet, cylindre, hélice, etc. (Pl. XVII, fig. 1).

Mais cet examen sur le vivant ne nous a permis d'observer que les produits d'élaboration de ces plastés, et non leur substance mitochondriale, vivante ; nous avons donc tenté d'établir autrement les rapports entre ces deux parties, par l'emploi des techniques mitochondriales. Les préparations obtenues sont généralement malaisées à interpréter. Les cris-

tallites de carotène sont difficiles à voir et paraissent rares dans la plupart des coupes, même lorsque celles-ci sont épaisses (20 μ). Il est donc indispensable d'examiner avant toute chose l'action des fixateurs sur l'ensemble des chromoplastes. En réalité, les cristallites sont parfaitement conservés avec leurs formes par les fixateurs mitochondriaux, mais le carotène est transformé en un produit incolore, probablement par oxydation.

On sait, en effet, que tous ces mélanges sont oxydants par principe, puisqu'ils doivent oxyder les substances lipoprotéiques du chondriome, de manière à les rendre insolubles dans l'alcool, le toluène et la paraffine. En outre, le bichromate de potassium, qui entre dans la composition de beaucoup de ces fixateurs, oxyde lentement le carotène en le décolorant (Cf. LISON [176]).

Le carotène et les substances mitochondriales se comportent donc de manière analogue vis-à-vis des fixateurs ; il reste à reconnaître leurs réactions de coloration, qui risquent d'être également voisines, ce qui serait défavorable à notre étude. En fait, on trouve çà et là, dans les préparations de tubercule normal, après coloration à l'hématoxyline ou à la fuchsine, des cristallites uniformément colorés (Pl. XIII, fig. 1, et Pl. XVI, fig. 1), tandis que d'autres ne paraissent l'être que sur leur pourtour, sous forme d'un liséré parfois très fin (Pl. XVI, fig. 2). Mais, par suite de la forme lamellaire de ces éléments, l'examen de telles préparations ne nous a pas permis d'aboutir à des résultats certains sur la nature des régions colorables ; ce n'est que l'étude ultérieure de l'évolution des chromoplastes qui nous a conduit à des conclusions sûres. Après un très grand nombre d'observations, nous nous sommes assuré que les cristaux de carotène, qui seraient transformés par oxydation en un produit incolore, se colorent très faiblement ou ne se colorent pas par la fuchsine d'ALTMANN ou par l'hématoxyline de REGAUD, qui teignent vigoureusement la substance de nature mitochondriale. Cette dernière forme une pellicule très fine autour des cristallites, elle est donc souvent difficile à mettre en évidence. Toutefois, c'est à la pellicule mitochondriale qu'est due principalement la faible coloration de certains cristallites par la fuchsine ou l'hématoxyline. Ainsi s'explique la rareté apparente des figures cristallines dans les préparations fixées et colorées. Parfois, nous avons pu faire réapparaître légèrement les cristallites en intensifiant la coloration de fond à l'érythrosine, qui les colore en rose très pâle.

D'ailleurs, le caractère chromophobe des cristallites après fixation nous a été d'un grand secours pour l'étude de la répartition de la substance plastidiale dans les chromoplastes. Nous avons reconnu que tous les produits d'élaboration de ces plastes, amidon et carotène, sont complètement inclus à leur intérieur jusqu'à la fin de leur évolution. Ces produits distendent donc considérablement la substance élaboratrice, qui, finalement, entoure les cristallites et les grains d'amidon d'une pellicule très fine et parfois difficile à voir (Pl. XIV, fig. A₁ à A₈, et Pl. XIII, fig. 1).

Enfin, il arrive que les chromoplastes portent de nombreuses granula-

tions liposolubles ; certaines sont des lécithines, si l'on en croit la réaction de SMITH-DIETRICH ; d'autres sont des huiles essentielles, mais les unes et les autres sont d'origine cytoplasmique et se sont fixées secondairement au contact des plastes.

En résumé, les cellules du parenchyme libérien normal renferment une pellicule de cytoplasme pariétal peu abondant, limitant une très grande vacuole et contenant un petit noyau peu chromatique, un chondriome formé de mitochondries, de chondriocontes très fins et peu allongés, et de volumineux chromoplastes amylières, aux formes diverses et compliquées. Dans le cytoplasme se trouvent également des granulations lipidiques souvent abondantes, constituées surtout de lipoides phosphorés et d'huiles essentielles. Le caractère fondamental de ces cellules est donc leur pauvreté en protoplasme, c'est-à-dire en matière vivante, et leur richesse en produits inertes, paraplasmiques : ce caractère atteste bien leur différenciation très poussée.

II. — La première phase de dédifférenciation des cellules du parenchyme libérien (phase préliminaire). Résorption de l'amidon.

Les premières modifications qui se produisent dans le parenchyme libérien peu de temps après le prélèvement des explantats ne sont pas localisées. Elles se manifestent d'abord dans les régions externes du liber, voisines du milieu, et s'étendent de proche en proche à toute l'épaisseur du tissu. Elles comprennent essentiellement d'une part des phénomènes de croissance cellulaire et d'autre part la disparition des substances de réserves que constituent les grains d'amidon. Les processus de croissance entraînent l'épaississement du fragment, ainsi qu'une courbure plus ou moins accentuée, la face qui repose sur le milieu devenant convexe. Quant à la résorption de l'amidon, elle s'accompagne de phénomènes cytologiques importants, qu'il nous faut examiner en détail.

LA DISPARITION DE L'AMIDON. — La régression des grains d'amidon débute par une condensation de la substance plastidiale qui, au lieu de les entourer complètement comme dans les cellules normales, les décoiffe plus ou moins et se ramasse à leur surface sous forme de granulations ou de filaments ramifiés. En outre, au cours de la condensation, la substance plastidiale se résout très souvent en plusieurs ensembles séparés (Pl. XIV, fig. B₁, B₂, B₃, B₇). Le début de la digestion de l'amidon modifie peu la forme des grains, mais les rend beaucoup moins apparents (Pl. XIII, fig. 2). Par la suite, ils se transforment en inclusions fluides, qui peuvent alors se déformer lorsqu'elles sont entraînées par les mouvements de cyclose. Elles constituent une sorte de vacuoles spéciales, qui diminuent peu à peu de volume et s'effacent dans le cytoplasme, où elles sont finalement résorbées (Pl. XIV, fig. B₅, B₆).

Aussitôt après la disparition de l'amidon, les plastes présentent des

formes compliquées qui résultent de leur condensation préalable. Le plus souvent, la perte de l'amidon laisse la substance plastidiale sous l'aspect ou bien de masses volumineuses ou bien de longs chondriocontes remarquables par leurs formes ramifiées très compliquées (Pl. XIII, fig. 2, *a* et *b*). On peut trouver un seul de ces éléments (Pl. XIV, fig. C₁, C₃, C₆, C₇) ou plusieurs (Pl. XIV, fig. C₂, C₄, C₅, C₈) à la place de chaque plaste primitif.

Les cristaux de carotène, dont les dimensions et la forme demeurent inchangées, se comportent de manières diverses quant à leurs relations avec la substance élaboratrice plastidiale. Nous distinguerons trois cas, qui se rencontrent parfois simultanément dans une même cellule et dont les planches XIII et XIV donnent divers exemples.

Tout d'abord, il se peut que quelques cristallites restent inclus entièrement dans le plaste, ou le fragment de plaste si celui-ci s'est résolu en plusieurs éléments au cours de la digestion de l'amidon (Pl. XIV, fig. C₁ et C₄, et Pl. XIII, fig. 2, 3, 4 et 6 : *c*). Ces cristallites internes se reconnaissent en général à leur coloration plus vive et plus uniforme que celle des autres. Ainsi, les figures 5, 7 et 9 de la planche XIII en montrent d'autres exemples, comparables aux formes marquées d'un *c* dans les figures 2, 3, 4 et 6.

Dans un second cas, nous groupons les plastes, ou fragments de plastes, dont la substance élaboratrice n'entoure plus complètement les cristallites. Ceux-ci sont partiellement dégagés de la substance plastidiale, qui s'est condensée soit en plusieurs éléments répartis à la surface des cristaux (Pl. XIV, fig. D₁, D₁₄, D₁₅), soit en une seule masse coiffant l'une de leurs extrémités (les figures sont analogues aux figures A₁, A₂, A₃, A₅, A₈, A₉, A₁₁ de la planche XIV *bis*, qui correspond en réalité à des phases un peu plus tardives). Des exemples de tels plastes ont été repérés dans la planche XIII par la lettre *b* (fig. 2, 3, 4, 6), mais les figures 2 à 10 en contiennent toutes, et il est facile de les reconnaître aux formes cristallines très pâles portant des masses plastidiales vivement colorées. Ainsi les plastes de la cellule 8 sont tous de ce type.

Enfin, et c'est notre troisième cas, il arrive que les cristallites de carotène se détachent complètement des plastes au cours de la condensation de la substance élaboratrice, et qu'on ne les retrouve plus dans les figures ramifiées qui en résultent (Pl. XIV, fig. C₂, C₃, C₅ à C₈). Dans ce dernier cas, l'armature de l'ancien chromoplaste et, en particulier, la forme du cristal qu'il portait persistent souvent pendant quelque temps dans les formes ramifiées des grands chondriocontes (Pl. XIV, fig. C₂, C₅, C₆, C₇, D₁₁, D₁₂). Lorsqu'il en est ainsi, on observe, d'autre part, les cristallites isolés, abandonnés par leurs plastes, dans le cytoplasme où ils sont en général peu apparents, ne portant plus de substance colorable (Pl. XIII, fig. 2, 4, 6, 9, 10, en *d*). Les figures ramifiées se simplifient par la suite ; elles se segmentent en de nombreux éléments semblables à des chondriosomes. La figure 2 de la planche XIII montre, en *a*, le début de leur morcellement qui se fait par rupture des régions étranglées et des trabé-

cules très fines qui relient entre elles les diverses ramifications de chaque élément. Dans les figures 3, 5, 6, 10, les plastes rameux marqués *a* présentent des étapes de leur transformation en éléments semblables à de simples chondriosomes. Ainsi se constituent de nombreuses mitochondries et surtout des chondriocontes, parfois longs et flexueux, qui s'ajoutent aux chondriosomes ordinaires et se confondent avec eux. Les plastes qui se trouvent dès lors dédifférenciés sont bien visibles sur le vivant ; l'observation vitale comparée des cellules du tubercule normal et des cellules de fragments cultivés pendant trois semaines montre un accroissement considérable de la quantité de chondriosomes. En outre, la plupart des chondriocontes sont remarquablement longs, alors que dans les tubercules normaux ils sont beaucoup plus courts. La figure 1 de la planche XIII, qui représente une cellule normale, peut être comparée à cet égard aux autres figures de cette même planche, représentant d'abord le début de l'amyolyse (fig. 2 à 5), puis la constitution des cellules à la fin de la première phase (fig. 6 à 10). Les figures 2, 6 et 10 en particulier montrent bien la formation des longs chondriocontes à partir de certains des chromoplastes, ceux indiqués par la lettre *a*.

LA STRUCTURE DES CELLULES DU LIBER A LA FIN DE LA PREMIÈRE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION. — En résumé, ce premier temps de la culture est essentiellement marqué par la résorption des réserves amylacées. Ces réserves semblent utilisées surtout à la croissance des cellules, qui se sont encore très peu divisées. A la fin de cette période, les cellules du parenchyme libérien sont toujours formées d'une couche cytoplasmique pariétale peu épaisse, limitant une grande vacuole. Le noyau s'est enrichi très légèrement en chromatine, mais il ne s'est guère modifié ; il est toujours lentriculaire ou ellipsoïde et reste appliqué contre la paroi de la cellule. Les granulations liposolubles n'ont pas évolué sensiblement. Par contre, la disparition de l'amidon a modifié profondément la structure des plastes. En plus des grains d'amidon, ces derniers ont parfois perdu leurs cristallites de carotène, qui se trouvent libérés dans le cytoplasme, tandis que la substance plastidiale s'est transformée en simples chondriocontes et en mitochondries. Dès cette première phase, généralisée à toutes les cellules du fragment cultivé, des phénomènes importants de dédifférenciation se sont donc produits, ramenant certains plastes à l'état d'éléments semblables aux chondriosomes indifférenciés. De la dédifférenciation partielle des plastes, il résulte que le cytoplasme s'est considérablement enrichi en chondriosomes. Cet ensemble comprend le chondriome banal, constitué de mitochondries et de chondriocontes relativement courts et les longs chondriocontes provenant des anciens plastes. Enfin les autres plastes ont seulement perdu leur amidon et sont devenus des chromoplastes plus simples, portant un cristal de carotène, complètement ou partiellement inclus dans la substance élaboratrice.

L'achèvement de la dédifférenciation de ces derniers chromoplastes va se produire au cours d'une *seconde phase de dédifférenciation*, qui, au

contraire de la première, sera caractérisée par l'apparition de la *prolifération cellulaire* et sera localisée d'abord à un nombre variable d'îlots du fragment, qui pourront confluer plus ou moins par la suite.

III. — La seconde phase de dédifférenciation. Apparition de la prolifération cellulaire et régression des chromoplastes.

Au cours de cette seconde phase, l'hétéro-auxine manifeste ses propriétés d'excitant de la division cellulaire. Cette phase se distingue donc de la première par l'entrée en jeu des phénomènes de prolifération qui donnent naissance au *tissu néoplasique*, dont nous avons parlé à propos de l'étude histologique (Cf. p. 121). Elle intéresse surtout les plastes, les chondriosomes et les granulations liposolubles. Nous examinerons successivement l'évolution de ces divers constituants, mais nous décrirons tout d'abord les premières divisions des cellules parenchymateuses, qui donnent lieu à de remarquables figures.

LES PREMIÈRES MITOSES. — Au moment du prélèvement des explantats sur les tubercules, les cellules du parenchyme libérien ont depuis longtemps cessé de se diviser. Dans les tubercules qui demeurent normalement en terre, ces cellules seraient mortes sans avoir proliféré de nouveau, mais après avoir cédé leurs réserves aux tiges florifères de la seconde année. Au cours de la différenciation qui a suivi les dernières divisions, les dispositions structurales se sont éloignées progressivement de celles qui existaient lors de ces derniers cloisonnements. En particulier, l'abondance des éléments paraplasmiqes, la pauvreté en cytoplasme, de même que la petitesse du noyau et les grandes dimensions de la vacuole entraînent des processus de divisions remarquables.

L'observation des premières mitoses a été faite sur des coupes de 5 et de 10 μ d'épaisseur, après fixation aux mélanges de HELLY et de NAVACHINE. Il est commode d'employer la réaction de FEULGEN pour observer le comportement de la chromatine, mais l'étude de la fin de la division est beaucoup plus facile après coloration par l'hématoxyline.

Les faibles dimensions du noyau font qu'il ne se prête guère à une étude détaillée de la caryocinèse ; nous n'en donnerons donc que l'essentiel. Nous avons vu déjà (p. 128) que le noyau de Carotte est réticulé ; le réseau est léger et porte des granulations plus chromatiques ; on y trouve généralement un seul nucléole. Au début de la première mitose, le noyau se gonfle, comme il est habituel, et s'écarte légèrement de la paroi où il était appliqué. Ce léger mouvement est accompagné d'une accumulation de cytoplasme périnucléaire. Au commencement de la prophase, certaines trabécules du réseau de résorbent, tandis que d'autres s'épaississent de manière à relier les granulations chromatiques par des filaments plus ou moins flexueux et parallèles. Ceux-ci constituent bientôt de petits

chromosomes peu allongés, courbés en arcs. La membrane nucléaire et le nucléole s'estompent, le fuseau achromatique apparaît, tandis que les chromosomes se disposent en plaque équatoriale. Ils subissent alors un raccourcissement très sensible ; certains deviennent presque punctiformes. Au début de l'anaphase, il s'allongent de nouveau et reprennent leurs formes arquées (Pl. XV, fig. 1). Nous n'avons pas observé le clivage longitudinal.

Malgré la disparition de la membrane nucléaire, la substance nucléoplasmique reste indépendante du cytoplasme qui l'entoure ; elle en demeurera distincte longtemps après la fin de la caryocinèse. Le début de la télophase (Pl. XV, fig. 2) est marqué par le tassement polaire des chromosomes, dont les branches se disposent parallèlement de manière très régulière. En même temps, le fuseau achromatique s'aplatit par rapprochement de ses pôles, et des granulations de la plaque cellulaire apparaissent déjà dans le plan équatorial. Les chromosomes se résolvent ensuite en trainées réticulaires, parallèles et rectilignes, portant des grains très chromatiques, puis ces trainées s'anastomosent en un réseau d'abord grossier, et dont les mailles deviennent de plus en plus fines. Il se forme ainsi deux petits espaces ellipsoïdes, où la chromatine paraît suspendue dans une substance fondamentale moins colorée que celle qui l'entoure (Pl. XV, fig. 3). Au cours de la télophase, la figure achromatique continue à s'aplatir, de sorte que la plaque cellulaire s'agrandit, mais sa surface reste encore bien faible relativement à la surface de section de la cellule initiale (Pl. XV, fig. 3).

Cependant les deux masses chromatiques s'entourent d'une membrane, et deux nucléoles apparaissent dans chacune. Les noyaux-fils se trouvent ainsi constitués aux pôles de l'ancienne figure achromatique (Pl. XV, fig. 4). Celle-ci devient le *phragmoplaste*, qui persiste longtemps et continue à élaborer la plaque cellulaire. Peu après leur constitution, les deux nucléoles de chaque noyau se fusionnent en un seul.

L'ensemble de ces phénomènes s'est produit sur le côté de la cellule, au voisinage de l'une des parois. Pendant la télophase, la figure achromatique est arrivée, en s'aplatissant, au contact de cette paroi, de sorte que la plaque cellulaire se fusionne à la membrane de la cellule initiale et commence à différencier lentement une nouvelle membrane qui apparaît d'abord dans la région voisine de l'ancienne (Pl. XV, fig. 4). A partir de ce point d'attache, le phragmoplaste commence à s'étendre à travers la grande vacuole, sous forme d'une lame de plus en plus mince, mais limitée par un bourrelet plus épais qui longe tout son bord libre (Pl. XV, fig. 5 à 8). Il est remarquable de constater que ce bourrelet reste strié comme le fuseau achromatique primitif, alors que la région amincie située en arrière a perdu toute striation (Pl. XV, fig. 5 à 8). Dans cette dernière région, une fine membrane se constitue peu à peu depuis la paroi de départ jusque vers le bourrelet, tandis que la partie striée du bord libre continue à élaborer la plaque cellulaire. Cette dernière s'agrandit donc par son bord libre et s'étend à travers la vacuole (Pl. XV, fig. 6, 7, 8). La

persistance du bourrelet implique que la substance du phragmoplaste s'écoule de la région initiale, où la plaque cellulaire est suffisamment différenciée, vers le bord libre. En fait, la fibrillation disparaît constamment du côté interne et apparaît du côté externe. Le bourrelet se propage ainsi jusqu'à ce qu'il atteigne les parois de la cellule-mère sur toute l'étendue de son bord libre ; il achève alors la segmentation de cette cellule. Parfois, ce parcours se produit franchement à travers le milieu du grand espace vacuolaire ; la segmentation donne alors naissance à deux cellules sensiblement égales ; mais la lame phragmoplastique peut s'infléchir en cours de route, et il arrive souvent qu'elle chemine parallèlement à une paroi de la cellule initiale et très près d'elle. Dans ce cas, il se forme deux cellules très inégales, l'une coiffant souvent l'autre d'une sorte de calotte. Les figures 6, 7 et 10 de la planche XV montrent de telles cellules constituées, et déjà redivisées ou en voie de l'être.

Ces phénomènes sont donc caractérisés par le fonctionnement prolongé du phragmoplaste après la caryocinèse et par son extension considérable, relativement aux dimensions du noyau et des figures du début de la caryocinèse. Le cytoplasme périnucléaire s'étend progressivement à la surface du phragmoplaste, au fur et à mesure de son élargissement. D'ailleurs, la substance même du phragmoplaste s'amincit considérablement à la fin de son fonctionnement, et nous n'avons pas observé les modalités de sa disparition avec netteté. Il nous semble probable qu'elle est résorbée dans le cytoplasme.

Ces divisions rappellent les divisions longitudinales des longues cellules cambiales d'arbres, décrites par BAILEY [4], où l'on trouve également le fonctionnement prolongé du phragmoplaste après la caryocinèse. D'autre part, LEVINE [165] a donné une figure analogue aux nôtres à propos de la cytokinèse de cellules géantes dans les tumeurs de type *Crown-gall*. Il semble bien que ces processus interviennent d'une manière générale lorsque des cellules à grandes vacuoles sont induites à se diviser, ce qui est d'ailleurs assez rare en dehors des cellules cambiales.

Mais les divisions des grandes cellules du parenchyme libérien de Carotte ne s'achèvent pas toujours parfaitement, et diverses anomalies qui se rencontrent assez fréquemment semblent traduire le fait que cette reprise d'activité prolifératrice ne s'accomplit pas volontiers, mais seulement sous l'effet d'une excitation très forte, extra-physiologique.

C'est ainsi que le fonctionnement du phragmoplaste est quelquefois assez lent pour que les noyaux-fils entrent de nouveau en division avant que soit achevée l'élaboration de la première membrane de segmentation. Cette double caryocinèse donne alors naissance à quatre noyaux qui se reconstituent complètement avant que la séparation des deux premières cellules soit complète. Entre chacun de ces deux couples de noyaux, il s'édifie naturellement un nouveau phragmoplaste ; les deux derniers se soudent à l'ancien, et il se forme un phragmoplaste composé dont les trois éléments continuent à fonctionner chacun pour leur compte (Pl. XV, fig. 9). La répétition de ce phénomène donne parfois naissance à de grandes

cellules contenant une masse de 4, 6 ou 8 noyaux, plus ou moins séparés par de fines membranes qui semblent incomplètes.

Il arrive également que les noyaux issus de la première caryocinèse soient déplacés par des courants cytoplasmiques avant l'achèvement de la cytokinèse et passent tous deux du même côté de la plaque cellulaire : il se forme alors une cellule anucléée et une cellule binucléée. Dans cette dernière, les deux noyaux se divisent en même temps à la manière des noyaux des cellules à dicaryons. Nous avons représenté (Pl. XV, fig. 12) l'une des figures les plus nettes que nous avons observées de ce cas, montrant deux télophases parfaitement synchroniques.

Enfin le bourrelet marginal strié du phragmoplaste s'épuise parfois avant que la plaque cellulaire qu'il élabore ait atteint les parois opposées à son point de départ ; une membrane incomplète se différencie alors, et il se forme une cellule binucléée, comme dans le cas précédent (Pl. XV, fig. 10). Le phénomène peut se répéter et, par suite des mouvements protoplasmiques ultérieurs, certains groupes de noyaux peuvent se rapprocher ou, au contraire, des territoires cellulaires anucléés, mais incomplètement isolés, peuvent se constituer (Pl. XV, fig. 11). De telles régions se trouvent parfois séparées complètement par la suite, après la formation de nouvelles membranes résultant de divisions successives. Ces anomalies expliquent la production de cellules plurinucléées, que l'on observe fréquemment au début de la prolifération. Ultérieurement, il semble bien que les cellules aberrantes dégénèrent ou se divisent peu, car, à la suite de cette première période de divisions cellulaires, le tissu néoplasique résultant paraît essentiellement constitué de cellules normales.

Au cours de ces mitoses, les cellules parenchymateuses continuent à se différencier. Les régressions structurales, dont nous allons suivre maintenant l'évolution, concernent principalement les plastes et les chondriosomes.

LA DÉDIFFÉRENCIATION DES CHROMOPLASTES. — Nous avons vu que certains chromoplastes se sont déjà différenciés lors de la première phase de leur évolution ; les autres ont seulement perdu leur amidon et ne portent plus que le cristallite de carotène, totalement ou partiellement inclus dans la substance mitochondriale. La différenciation de ces derniers est plus ou moins lente et peut revêtir au début des aspects divers, selon que le cristallite se détache du plaste ou y reste inclus. Nous examinerons donc d'abord les particularités de ce début, puis nous décrirons la fin de la différenciation de ces chromoplastes, qui est commune à tous.

La séparation des cristallites de carotène et de la substance plastidiale. — Dans un premier cas, nous rangerons les chromoplastes, qui, à la fin de la première phase, n'ont conservé que des relations très faibles avec le cristallite. La figure 8 de la planche XIII en montre des exemples. Le plaste se détache alors très tôt du cristallite et se trouve libéré dans le cytoplasme, où il forme une masse assez volumineuse. La cellule inférieure de la figure 4 (Pl. XIII) montre un tel plaste, appliqué contre la paroi

de gauche ; d'autres exemples se voient à la partie supérieure de la figure 10. Ces plastes ont tendance à devenir globuleux, puis ils se divisent par étranglements et constituent des figures piriformes, ou en forme d'haltères ou de chapelets, qui se confondent avec les formes résultant de la régression des autres plastes.

Parmi ces derniers, il en est dont la substance plastidiale entourait encore plus ou moins complètement le cristal de carotène, aussitôt après la perte de l'amidon, mais chez qui cette substance continue à se condenser sur des régions localisées du cristal (Pl. XIV *bis*, ligne A). La substance élaboratrice se résout en une ou plusieurs masses globuleuses, accolées à la surface du cristal, qui se trouve donc progressivement découvert (Pl. XIV *bis*, fig. A₁ à A₁₂). Les relations entre le cristallite et les parties mitochondriales du plaste n'ont plus, dès lors, qu'une signification de simple contact ; la substance plastidiale n'élabore plus, et chaque partie se comporte indépendamment, comme si son voisinage n'existait pas. Le carotène demeure tel quel pendant la suite de la dédifférenciation, tandis que les amas discontinus de substance plastidiale se segmentent en éléments de plus en plus petits (Pl. XIV *bis*, fig. B₂, B₃, B₉ à B₁₂ et C₁₂ à C₁₄). Au cours de ces divisions, des fragments sont libérés dans le cytoplasme (Pl. XIV *bis*, fig. B₄, B₆, B₈, B₉, B₁₀, où les divisions par étranglements sont en cours). Il en résulte que la partie mitochondriale est de moins en moins abondante autour du cristal (Pl. XIV *bis*, fig. B₁, B₅, B₇ à B₁₀). Le cristal se trouvera donc libéré à son tour au bout d'un temps généralement assez long, lorsque la dédifférenciation des plastes sera achevée. Quant aux fragments de substance mitochondriale détachés au cours des divisions successives, ils prennent des formes plus ou moins globuleuses, bien distinctes des chondriosomes par leurs dimensions plus grandes. En fin de compte, nous sommes ramené au cas précédent, mais beaucoup plus tardivement.

La résorption du carotène à l'intérieur des chromoplastes. — Il arrive parfois que le cristallite de carotène reste entièrement inclus dans la substance élaboratrice, mais cette circonstance est relativement peu fréquente ; elle a le plus de chances de se produire lorsque les cristallites sont de petite taille.

La régression de ces chromoplastes paraît très compliquée, et elle est malaisée à suivre. Nous y sommes parvenu en combinant étroitement les observations vitales avec celles des coupes fixées par le mélange de MIVES et colorées à la fuchsine d'ALTMANN. Cette technique de préparation a l'avantage de conserver presque intégralement tous les éléments liposolubles et de les colorer en brun, ce qui les rend très distincts après la coloration en rouge vif des chondriosomes et des plastes par la fuchsine. En outre, par cette méthode, on colore généralement le carotène en rose pâle, et les cristaux sont plus visibles que par la méthode de REGAUD. C'est à ces préparations que nous faisons allusion à la page 130, en parlant de la faible coloration parfois observée sur certains cristaux.

Ces préparations montrent que les dimensions des plastes se réduisent sensiblement tout d'abord. Ces plastes conservent pendant quelque temps

l'aspect de losanges ou de rubans plus étroits que précédemment, puis les formes cristallines s'estompent, les angles s'émoussent et les chromoplastes prennent des contours arrondis, en ovoïdes allongés, en haltères ou en massues (pl. XVI, fig. 3 à 6 et fig. 8). Ce sont les formes réalisées déjà dans les cas précédents.

Mais ces coupes, fixées et colorées, ne donnent que peu de renseignements sur l'évolution du carotène enfermé dans les plastes ; elles ne sont précieuses que pour l'étude de la substance plastidiale. L'observation vitale fournit des précisions supplémentaires. Elle vérifie d'abord la réduction de taille des cristallites, qui prennent en même temps des formes déroulées plus simples (pl. XVII, fig. 2 et 4). Les mêmes figures montrent que certains acquièrent des contours arrondis qui laissent présumer la perte de leur structure cristalline. En fait, nous avons souvent constaté que ces plastes deviennent plus ou moins colorables par le noir-Soudan B, ce qui indique un enrichissement en substances liposolubles. D'autre part, certaines figures montrent que le carotène se dissout lentement dans ces substances avant d'être transformé (Pl. XVII, fig. 9). Il peut alors y former des granulations isolées rappelant tout à fait la structure hétérogène des chromoplastes en voie d'élaboration dans certains pétales de fleurs et dans certains fruits étudiés par GUILLIERMOND [112] (Pl. XVII, fig. 9, plaste supérieur). Mais très souvent ces plastes en voie de différenciation s'enrichissent en lipides dissous et se colorent de manière homogène par le carotène (Pl. XVII, fig. 9).

L'observation vitale montre en outre que le carotène subit une modification chimique, qui le transforme en un produit incolore. Cette décoloration est progressive et peut débiter bien avant la perte des formes géométriques (Pl. XVII, fig. 3, 5 et 6), mais elle se superpose le plus souvent aux phénomènes décrits ci-dessus. Les figures 3, 4, 7, 8 et 9 de la planche XVII montrent diverses étapes de cette évolution, et en particulier la dépigmentation progressive des plastes. En traitant des coupes à main levée par la solution iodo-iodurée concentrée, qui colore le carotène en violet, on peut mettre encore plus nettement en évidence la disparition de ce pigment ; la figure 11 de la planche XVII montre une cellule traitée de cette manière, dans laquelle la coloration des plastes devient très faible et se localise de plus en plus, tandis que leurs contours s'arrondissent à la suite de la disparition de la structure cristalline.

La décoloration du carotène suppose ou bien la saturation des doubles liaisons conjuguées de la molécule, responsables de la couleur, ou bien la destruction de cette molécule. Nous n'avons pas déterminé la réaction qui se produit dans les conditions de nos expériences, mais elle évoque fortement la dépigmentation du carotène sous l'action d'oxydants tels que le bichromate de potassium.

La substance mitochondriale des chromoplastes étant très difficile à voir sur le vivant au début de la différenciation, les figures obtenues d'une part au moyen de l'observation vitale et d'autre part après fixation et coloration sont d'abord différentes, les premières ne fournissant que le

contour des cristallites et les secondes montrant le contour réel des plastes ; mais, dès la perte des formes géométriques et de la pigmentation, ces deux méthodes fournissent des figures très comparables. Il est aisé de s'en rendre compte, en comparant les figures 3, 4, 5 et 6 de la planche XVI et les figures 3, 4, 7 et 8 de la planche XVII, respectivement. Les plastes dépigmentés sont en effet sensiblement plus réfringents que la substance élaboratrice des chromoplastes initiaux, probablement du fait de leur enrichissement en lipides et en produits de transformation du carotène. On peut alors les observer plus facilement et constater qu'ils se présentent à l'état vivant avec le même contour général qu'après fixation (Pl. XVII, fig. 5 à 10).

L'achèvement de la dédifférenciation des chromoplastes. — Nous venons de voir que, quelles que soient les modalités du début de leur dédifférenciation, les chromoplastes se résolvent toujours en éléments globuleux, ovoïdes ou en forme de massues ou de gros filaments, après l'élimination ou la résorption du carotène. Dès ce stade, il est impossible de reconnaître avec certitude comment s'est faite la première phase de leur régression, et la suite est commune à tous. Cependant certains indices montrent que tel ou tel mode a été réalisé dans certaine cellule. Par exemple, les figures 5, 6 et 8 de la planche XVI comportent des chromoplastes qui résorbent le cristallite à leur intérieur, tandis que, dans les cellules supérieures des figures 7 et 9, où la dédifférenciation est d'ailleurs plus avancée, à côté de plastes déjà très petits, on trouve des cristaux abandonnés dans le cytoplasme, prouvant que les éléments plastidiaux se sont détachés d'eux.

De toute façon, les anciens chromoplastes, libérés du pigment caroténoïde, se distinguent d'abord très nettement du chondriome ordinaire par leurs dimensions de beaucoup supérieures à celles des chondriosomes (Pl. XVI, fig. 3 à 5). Ces plastes se segmentent par étranglements, formant des figures en haltères ou en courts chapelets (Pl. XVI, fig. 5 à 9), dont les éléments se séparent en masses piriformes ou globuleuses de plus en plus petites (fig. 7 et 9). A la fin de ces divisions répétées, les anciens plastes se trouvent réduits à l'état de mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets qui ne se distinguent plus du chondriome ordinaire.

Le comportement des cristaux de carotène libérés dans le cytoplasme. — Tandis que la substance vivante des plastes revient ainsi à l'état d'éléments semblables aux chondriosomes, les cristaux de carotène qui n'ont pas été résorbés dans les plastes demeurent à peu près inchangés dans le cytoplasme où ils ont été abandonnés. Souvent ces cristallites se groupent dans une région de la cellule et sont éliminés du reste du protoplasme à la suite de divisions cellulaires. Ils se trouvent alors réunis dans une même petite cellule qui ne prolifère plus. Les cellules anormalement riches en carotène, qui se constituent de cette manière, dégénèrent souvent, et les cristaux s'effacent dans des masses réfringentes, de couleur jaune ocracé, simulant des formes myéliniques, mais se colorant difficilement par les colorants des lipides. Dans la figure 3 de la planche XVII, la cellule

inférieure montre une de ces masses où se sont résorbés des cristallites.

Dans la plupart des cas, les cristaux se trouvent dispersés par la prolifération cellulaire ; chaque ensemble est réparti entre les nombreuses cellules qui dérivent d'une même cellule du parenchyme primitif. Ils paraissent ainsi devenir de plus en plus rares. Il se constitue bientôt beaucoup plus de cellules qu'il n'y avait de cristallites, de sorte que beaucoup d'entre elles n'en possèdent plus. Ainsi s'opère une manière d'élimination, mais en réalité les cristaux demeurent inchangés pendant longtemps. Ils semblent toutefois pâlir dans certains cas et se fragmenter en éléments anguleux, à pointes aiguës, mais nous n'avons pas observé leur désintégration. Au contraire, nous les avons retrouvés nombreux dans certaines cellules de fragments qui furent exposés à la lumière après la période de dédifférenciation des plastes. Au bout de deux ou même quatre semaines

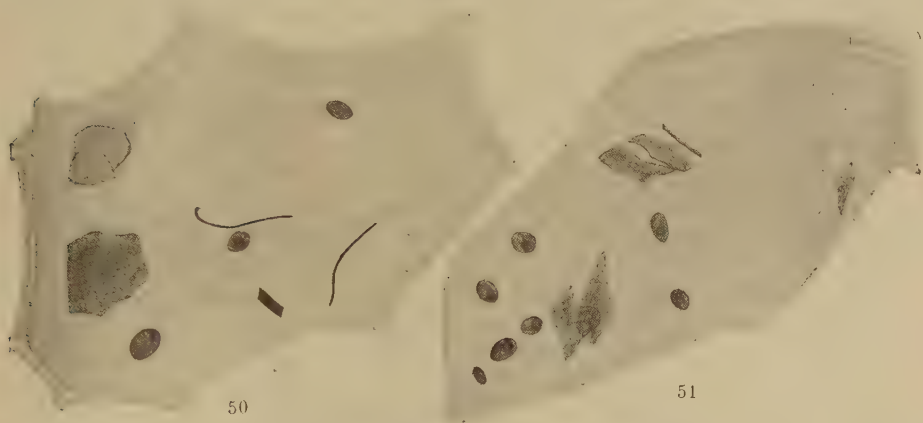


FIG. 50 et 51. — Cellules de fragments exposés à la lumière après dédifférenciation des chromoplastes. On voit, d'une part, les cristallites de carotène, abandonnés dans le cytoplasme par les plastes lors de leur régression, et, d'autre part, des plastes ovoïdes redifférenciés en chloroplastes sous l'effet de la lumière. Chondriosomes ordinaires bien visibles, allongés en chondriocontes. L'un des plastes (fig. 5) porte encore un appendice filamenteux incolore, témoin de sa différenciation récente à partir d'un élément en forme de chondrioconte. (Observation vitale.) ($\times 1\ 200$.)

d'exposition, ils subsistaient encore inchangés dans le cytoplasme, alors que les plastes qui les avaient abandonnés s'étaient redifférenciés en chloroplastes (fig. 50 et 51).

L'ÉVOLUTION DES CHONDRIOSOMES. — A la fin de la période de croissance, caractérisée par la disparition de l'amidon, nous avons vu que les éléments en forme de chondriosomes se composaient du chondriome initial augmenté des éléments provenant de la dédifférenciation rapide d'une partie des plastes. Le chondriome initial était formé de mitochondries et de chondriocontes très fins et relativement courts, tels que ceux de la figure 1 de la planche XIII, tandis que les plastes dédifférenciés compre-

naient des mitochondries et surtout de longs chondriocotes flexueux (Pl. XIII, fig. 10 ; Pl. XVI, fig. 1 et 2).

Ces chondriosomes se modifient peu au début de la prolifération, tandis que s'amorce la dédifférenciation des chromoplastes (Pl. XVI, fig. 3 à 6). Par contre, à la fin de la régression des plastes, les mitochondries et surtout les chondriocotes commencent à se segmenter activement par étranglements (Pl. XVI, fig. 7 à 9), et donnent naissance à des éléments de plus en plus courts et de plus en plus nombreux. Ainsi, les mitochondries et les courts bâtonnets deviennent bientôt prépondérants sur les chondriocotes (Pl. XVI, fig. 9).

Nous avons vu que la dédifférenciation des chromoplastes conduit à des formes analogues, mais dont les dimensions restent longtemps un peu supérieures à celles des mitochondries (Pl. XVI, fig. 9). Cette différence de taille s'atténue progressivement au fur et à mesure de leurs segmentations en organites de plus en plus petits (Pl. XVIII, fig. 1). Finalement, le tissu néoplasique est formé de cellules dont le chondriome constitue un ensemble d'apparence homogène, comprenant de nombreuses mitochondries et de courts bâtonnets, parmi lesquels on ne distingue plus de plastes différenciés.

LES GRANULATIONS LIPOSOLUBLES. — Au cours de la prolifération des cellules parenchymateuses, il se produit souvent, dans l'ensemble du tissu

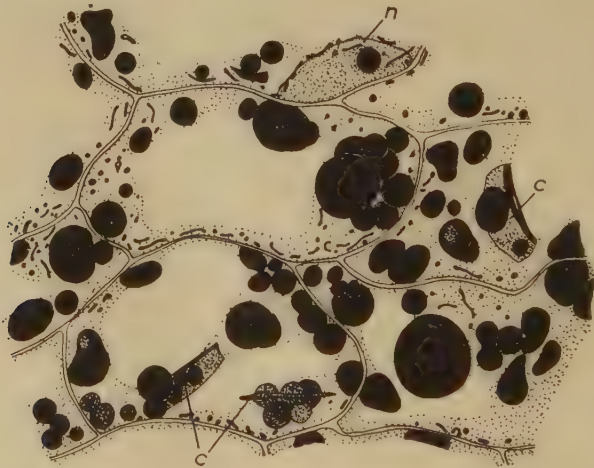


FIG. 52. — Cellules du tissu néoplasique envahies par une production intense de grosses granulations liposolubles. C, cristallites de carotène ; n, noyau. (Meves-Hématoxyline.) ($\times 1\,500$.)

néoplasique, un enrichissement considérable en substances liposolubles. Ceci constitue un obstacle à la dédifférenciation et peut l'arrêter tout à fait dans certains cas. Toutefois, ce fait ne se produit pas en général avec le plus d'ampleur dans les cellules où se poursuivent activement les régressions structurales, mais seulement dans leur voisinage.

Dans les cellules de ce voisinage, on assiste à l'accroissement de taille des lipidosomes, qui existent normalement dans les cellules du parenchyme libérien. Par la suite, beaucoup d'entre eux se fusionnent, et on obtient des cellules littéralement bourrées de grosses granulations liposolubles (fig. 52). Ces corps se colorent vivement par le soudan III et par le noir-soudan B, mais les préparations s'altèrent très vite par dissolution des globules dans l'alcool du colorant. Certains présentent les réactions des lécithides, en particulier la réaction de SMITH-DIETRICH, mais d'autres semblent constitués surtout d'huiles essentielles, car ils se comportent exactement comme les produits des canaux sécréteurs vis-à-vis des divers réactifs.

Ce développement de lipides et d'essences est très sensible dans les cellules qui poursuivent leur dédifférenciation, mais il reste beaucoup plus limité et forme seulement de nombreux petits granules très réfringents (Pl. XVII, fig. 2, 3, 7, 9 et 11). Après fixation par le mélange de MEVES, ces corps se retrouvent, colorés en brun par l'acide osmique (Pl. XVI, fig. 1, 2, 4 à 9). Certains d'entre eux peuvent s'accoler à des chromoplastes. Il arrive alors que, pendant la dédifférenciation de ces derniers, le carotène passe en solution dans les lipidosomes. On observe parfois la décoloration du plaste, corrélativement à la pigmentation des granulations liposolubles, qui prennent une teinte jaune d'or (Pl. XVII, fig. 5).

Lorsque la prolifération se poursuit activement, les lipidosomes atteignent rapidement des dimensions maxima, puis leur grosseur diminue lentement, et tout se passe comme s'ils étaient utilisés dans le développement du tissu néoplasique. Celui-ci comporte donc finalement, au moins dans certaines régions actives, des cellules très pauvres en granulations liposolubles.

LA STRUCTURE DES CELLULES A LA FIN DE LA SECONDE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION. — La première phase de dédifférenciation avait été marquée par des processus de croissance cellulaire et par la disparition des réserves amylacées des plastes. Au cours de cette seconde étape, nous avons assisté à des phénomènes de prolifération cellulaire pendant lesquels se sont produites la dédifférenciation des chromoplastes et la segmentation des chondriosomes.

A la suite de ces transformations, nous nous trouvons en présence de cellules beaucoup plus petites que les cellules initiales, et dont le cytoplasme est réparti, comme dans celles-ci, en une couche pariétale, très fine, le centre étant occupé par une grande et unique vacuole. Par contre, le cytoplasme ne renferme plus qu'un chondriome homogène où l'on ne distingue plus la lignée des plastes de celle des chondriosomes. Le noyau est lenticulaire ou ellipsoïde et très aplati lorsqu'il est à l'état quiescent ; il se trouve alors appliqué contre la membrane cellulaire. Il est légèrement plus riche en chromatine que le noyau des cellules du parenchyme libérien, mais il est encore peu différent de ce type initial. Ses dimensions linéaires se sont réduites de moitié environ, mais le rapport nucléoplas-

mique s'est accru considérablement du fait de la réduction des dimensions cellulaires. Enfin les cellules néoplasiques actives renferment quelques granulations liposolubles de petite taille.

Ces faits rapprochent beaucoup les cellules néoplasiques des cellules cambiales qui présentent les mêmes caractères cytologiques. Nous avons signalé d'ailleurs (Cf. p. 122) que des zones génératrices se forment dans ce tissu, autour des îlots de cellules dont les parois ont différencié des épaissements réticulés lignifiés. On retrouve dans ces zones génératrices néoformées la même structure cytologique que dans le cambium du tubercule normal (Pl. XVIII, fig. 2).

En résumé, ces deux premières phases de dédifférenciation constituent une étape importante au cours de laquelle les cellules du parenchyme libérien sont ramenées à l'état structural des cellules cambiales dont elles dérivent. Cette organisation cytologique a toujours tendance à se compléter par l'organisation histologique en zones génératrices, caractéristique de méristèmes secondaires ; mais, que cette disposition histologique soit réalisée ou non, les cellules néoplasiques peuvent poursuivre leur dédifférenciation en passant par les mêmes états intermédiaires. Ces états sont encore identiques à ceux par lesquels les cellules cambiales du tubercule normal se dédifférencient pour former les racines les plus précoces des fragments cultivés *in vitro*.

VI. — La dernière phase de dédifférenciation. Passage du type cambial au type méristématique primaire.

La plupart des cellules du tissu néoplasique, une fois parvenues à l'état structural que nous venons de décrire, continuent à proliférer modérément, surtout dans les régions organisées en zones génératrices, mais en conservant les mêmes caractères cytologiques de cellules cambiales. Au contraire, certaines d'entre elles, situées ou non dans les zones génératrices, peuvent manifester une activation très localisée de la prolifération. La recrudescence locale d'activité mitotique annonce la dernière phase de dédifférenciation qui conduit à l'édification de méristèmes radiculaires.

Alors que les modifications morphologiques des premières phases intéressaient principalement les plastes et les chondriosomes, au cours de cette dernière, c'est surtout le noyau, le cytoplasme et les vacuoles qui se modifient.

LES MODIFICATIONS DU NOYAU. — Dans les régions où la recrudescence d'activité prolifératrice commence à se manifester, les noyaux gardent encore pendant quelque temps leur forme aplatie et leur situation périphérique, contre la membrane des cellules. Ils quittent cette position pour entrer en caryocinèse, mais, à la fin de la télophase, les noyaux-fils demeurent contre la paroi nouvelle et redeviennent lenticulaires. Ces noyaux grossissent assez rapidement et s'enrichissent en chromatine

pendant l'intervalle entre les mitoses. Après quelques segmentations, les noyaux interphasiques ne reviennent pas complètement à la forme aplatie des noyaux précédents. Au fur et à mesure de la prolifération, ces noyaux issus de divisions répétées se montrent de plus en plus épais (Pl. XVIII, fig. 2, 3, 4) et, au bout d'un certain temps, il s'est formé un massif de petites cellules à parois très minces contenant chacune un noyau à peu près sphérique (Pl. XVIII, fig. 4, 5) Le changement de forme est accompagné, au début de cette dernière phase, d'une augmentation transitoire mais très sensible du volume nucléaire, qui est multiplié par cinq environ.

Le rapport $\frac{v}{V}$ du volume nucléaire au volume cellulaire augmente considérablement au cours de l'ensemble de l'évolution régressive : voisin de $\frac{1}{1600}$ pour les cellules parenchymateuses primitives, il atteint la valeur $\frac{1}{8}$ environ dans les méristèmes néoformés, valeur deux cents fois plus grande. L'épaisseur de la pellicule cytoplasmique, mesurée sur les cellules vivantes, étant de l'ordre de 0,5 μ , le véritable rapport nucléoplasmique, calculé comme il est dit page 49, passe de $\frac{1}{80}$ à $\frac{1}{8}$: ces ordres de grandeur sont assez différents pour indiquer une augmentation sensible.

Au point de vue structural, les noyaux deviennent plus chromatiques. Les préparations exécutées selon la technique de FEULGEN montrent que le réseau devient plus épais et les granulations chromatiques plus volumineuses (Pl. XXX, fig. 13).

L'ÉVOLUTION DU CYTOPLASME ET DES VACUOLES. — Dès le début de la dernière phase de dédifférenciation, la couche pariétale de cytoplasme des cellules qui résultent des cloisonnements répétés s'épaissit de façon très sensible. La vacuole centrale reste d'abord unique, mais ses dimensions se réduisent par suite de l'abondance croissante du cytoplasme et des dimensions de plus en plus réduites des cellules. Bientôt des trabécules cytoplasmiques de plus en plus fortes et en nombre croissant se tendent à travers la vacuole. Ces trabécules se ramifient, puis s'anastomosent et confluent entre elles latéralement de manière à former des rubans cytoplasmiques, puis des pellicules de plus en plus larges et épaisses, qui segmentent la vacuole (Pl. XVIII, fig 5, où les membranes cellulaires sont invisibles). Le phénomène se répète plusieurs fois et il se constitue dans chaque cellule plusieurs petites vacuoles qui ont tendance à devenir sphériques. Cette tendance paraît indiquer une tension superficielle relativement forte à la limite cytoplasme-vacuole et suppose une grande différence de concentration et de viscosité entre les deux phases. On remarque d'ailleurs que les fixateurs ne conservent rien du contenu vacuolaire ; il semble donc probable que ce contenu est toujours très dilué et que les vacuoles sont encore très fluides.

Au fur et à mesure de la dédifférenciation, le cytoplasme se condense et devient plus abondant, tandis que le volume des vacuoles diminue

corrélativement. Pendant cette période, le noyau se déplace ; il abandonne la paroi où il se tenait appliqué et prend une position centrale dans la cellule. Le déplacement du noyau se produit en même temps que des mouvements cytoplasmiques importants qui déforment les vacuoles. Ces dernières perdent leur aspect globuleux et s'étirent en filaments plus ou moins irréguliers ; certaines présentent finalement les contours en forme de chondriosomes, fréquents dans les cellules méristématiques (Pl. XVIII, fig. 6). Dès lors, les formes étirées de l'appareil vacuolaire se maintiendront dans le méristème nouvellement constitué ; cette stabilité donne à penser que les vacuoles sont devenues beaucoup plus visqueuses que précédemment. En fait, les fixateurs y produisent souvent des précipités sidérophiles qui témoignent de l'accroissement de concentration de leur contenu. Certains de ces précipités ressemblent à des chondriosomes ou à des plastides, mais nous retrouvons, pour les en distinguer, l'auréole claire qui les isole du cytoplasme, et qui a déjà permis à GUILLIERMOND [113] de démontrer leur nature vacuolaire dans les méristèmes radiculaires normaux (Pl. XVIII, fig. 6, en particulier cellule supérieure et cellule inférieure droites).

LE COMPORTEMENT DU CHONDRIOME. — Nous venons de décrire les modifications morphologiques les plus apparentes de la fin de la dédifférenciation, mais d'autres, plus discrètes, se produisent dans le chondriome.

Celui-ci est constitué au début de mitochondries granuleuses et de très courts bâtonnets (Pl. XVIII, fig. 2 et 3). Ces éléments continuent d'abord à se segmenter, de sorte qu'ils deviennent plus petits et plus nombreux (Pl. XVIII, fig. 3 et 4) ; puis certains d'entre eux s'allongent sensiblement et se transforment en chondriocontes très fins (Pl. XVIII, fig. 4 et 5). Il s'agit d'ailleurs d'un allongement réversible, variable avec l'état physiologique de la cellule, et qui n'est jamais très accusé. Finalement, au lieu des éléments granuleux, de taille relativement forte et assez peu nombreux du tissu néoplasique initial, les cellules du méristème organisé contiennent un chondriome très nombreux, formé d'une majorité de mitochondries de petite taille, de bâtonnets et de quelques chondriocontes, courts et très fins.

Au cours de cette dernière phase de dédifférenciation, des cellules de type structural identique à celui des méristèmes secondaires sont passées à l'état structural et fonctionnel typique de méristèmes radiculaires. Ces cellules se trouvent donc dédifférenciées ; elles ont acquis les caractères et les propriétés des cellules à potentialités multiples des méristèmes primaires normaux de racines.

* * *

En résumé, les cellules du parenchyme libérien de Carotte se comportent comme des éléments très évolués dont la dédifférenciation ne peut se produire que sous l'action de facteurs exceptionnellement actifs. Elle est alors très lente et comporte trois grandes phases. Tout d'abord, au cours

d'une *phase préliminaire*, qui précède le déclenchement de la prolifération, les cellules perdent leurs grains d'amidon, produits de réserves dont les chromoplastes sont chargés ; il en résulte une diminution considérable du rapport $\frac{\text{paraplasme}}{\text{protoplasme}}$. Au cours de la *seconde phase*, les cellules se divisent, et l'on assiste à la régression des chromoplastes, qui perdent ou résorbent leur carotène, selon les cas, et dont la substance élaboratrice, de nature mitochondriale, retourne à l'état de mitochondries et chondriocentes semblables aux chondriosomes ordinaires. A la fin de cette phase, les cellules sont revenues à l'état structural des *cellules méristématiques secondaires* à chondriome homogène, mais renfermant toujours une grande vacuole unique. La *troisième phase* les fait passer de ce stade cambial à l'état de *cellules méristématiques primaires*, à gros noyau central, riches en cytoplasme et renfermant de nombreuses petites vacuoles à contenu concentré.

QUATRIÈME PARTIE

LES PHÉNOMÈNES DE DÉDIFFÉRENCIATION DANS LES CULTURES DE TISSUS DU TUBERCULE DE *CICHORIUM INTYBUS* L. var. (CHICORÉE A CAFÉ DE MAGDEBOURG)

CHAPITRE PREMIER

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

I. — Le matériel végétal : Endive et Chicorée à café.

Les diverses Chicorées cultivées sous les noms de *Chicorée de Bruxelles*, ou *Endive*, ou *Whitloof*, de *Barbe-de-Capucin* et de *Chicorée à café* ou *Chicorée de Magdebourg* sont des variétés cultivées de l'espèce sauvage *Cichorium intybus* L.

Nous avons utilisé les variétés dites *Chicorée de Bruxelles* ou *Whitloof* et *Chicorée à Café* ou *Chicorée à grosse racine*, de VILMORIN. Ces deux formes sont très voisines, mais la *Chicorée à café* fournit des tubercules plus gros que la *Chicorée de Bruxelles*.

Les propriétés de bourgeonnement de ces racines, utilisées dans la culture de l'Endive, sont connues depuis longtemps. Elles ont fait récemment l'objet de recherches expérimentales, morphologiques et physiologiques, de KWASNIKOV [155] (1937), qui a montré que la racine d'Endive est capable de bourgeonner sur toute sa longueur. D'après cet auteur, les bourgeons se forment principalement à partir du cambium.

La réactivité considérable des tissus de ces racines, que l'on retrouve d'ailleurs chez beaucoup de racines de Composées, a conduit R.-J. GAUTHERET à essayer de cultiver ces tissus *in vitro*. Mais cet auteur n'obtint de véritables cultures de tissus qu'en additionnant le milieu nutritif d'acide naphthyl-acétique. En l'absence de cette hétéro-auxine, les explantats forment rapidement de nombreux bourgeons : ces conditions sont donc particulièrement favorables à l'étude de phénomènes de dédifférenciation. C'est sur les conseils de R.-J. GAUTHERET que nous avons entrepris cette étude.

D'ailleurs, après avoir étudié la formation de racines sous l'action de l'acide indole-acétique, il était intéressant d'aborder un cas de bourgeonnement à partir de tissus de racines et sans hétéro-auxine.

Enfin, ce matériel a l'avantage d'être disponible pendant toute la saison froide, au contraire de la Tomate et des feuilles de *Brimeura*, que nous avons utilisées d'autre part.

II. — Technique de culture.

La technique de culture des tissus du tubercule d'Endive a été imaginée et mise au point par R.-J. GAUTHERET [99] (1941). Nous l'avons reprise à peu près telle quelle, à quelques détails près. Cette technique présente bien des points communs avec celle que nous avons décrite précédemment pour la culture des tissus de Carotte. Nous la résumerons donc brièvement par comparaison avec cette dernière. Ici encore, nous n'aurons à nous occuper que d'opérations de prélèvements, la néoformation des bourgeons étant très précoce.

MILIEUX ET RÉCIPIENTS DE CULTURE. — Nous avons employé le liquide de KNOP dilué de moitié, comme pour les tissus de Carotte, mais sans y ajouter d'hétéro-auxine. Dans certaines expériences, le milieu était additionné de 2 p. 100 de glucose. Les solutions nutritives étaient solidifiées par 1,3 p. 100 de gélose.

Ces milieux ne permettent pas de réaliser de véritables cultures de tissus. Pour y parvenir, GAUTHERET ajoute une dose relativement forte d'acide naphtyl-acétique, qui empêche la production des bourgeons et limite les néoformations au développement de cals où ne se différencient pas d'organes.

La suppression de l'hétéro-auxine entraîne au contraire le développement d'un grand nombre de bourgeons, et le milieu devient le plus favorable pour nos recherches. Ce milieu n'a d'ailleurs pas une grande importance lorsqu'on ne prolonge pas la culture au delà des premiers stades du bourgeonnement, car la croissance se produit d'abord aux dépens des réserves de l'explantat. En particulier, le glucose n'est utile que si l'on étudie les bourgeons formés tardivement sur les cals.

Les récipients de culture sont, comme pour les tissus de Carotte, des tubes de 24 et de 30 millimètres de diamètre, longs de 16 à 20 centimètres. Ils sont remplis de milieu jusqu'à moitié, bouchés d'un simple tampon de coton cardé et stérilisés à l'autoclave pendant vingt minutes à 115°-120°. On les laisse refroidir ensuite en position verticale. Par suite de la rapidité du bourgeonnement, il n'est pas nécessaire d'opérer en milieu à deux phases comme pour les tissus de Carotte (Cf. p. 114).

Nous avons effectué des cultures en tubes non capuchonnés et en tubes capuchonnés au moyen d'un capuchon de caoutchouc. Cette dernière méthode est surtout favorable au développement du cal, tandis que les bourgeons apparaissent plus rapidement dans les tubes non capuchonnés. Le meilleur dispositif comporte un capuchonnage non hermétique, qui entretient une atmosphère humide, mais non saturée d'eau.

OPÉRATIONS DE PRÉLÈVEMENT. — Ces opérations comportent d'abord la stérilisation des tubercules.

Comme pour les Carottes, elle s'effectue dans la solution d'hypochlorite de calcium à 4 p. 100, pendant une heure et demie. Les tubercules doivent être épluchés soigneusement (il n'est pas possible de les gratter comme les Carottes). Après la stérilisation, il est nécessaire d'éliminer rapidement l'antiseptique, les tissus des tubercules de Chicorée étant plus perméables que ceux de Carotte. Pour cela, on épluche aseptiquement les pièces aussitôt après le bain dans l'hypochlorite. On procède de la même manière que pour enlever les parties mortes des Carottes après lavage à l'eau stérile (Cf. p. 117).

Après ce lavage, qui se pratique comme pour les Carottes, un nouvel épluchage aseptique est nécessaire, avant de découper les tubercules en cylindres de 20 millimètres de hauteur. Ces pièces sont divisées ensuite en quatre à six secteurs, selon le diamètre de la racine (fig. 53). Au cours de ces opérations, il faut avoir soin de repérer l'orientation des fragments. En effet, après avoir éliminé les régions centrales de la racine sur chacun d'eux, on les pique dans le milieu gélosé des tubes, de telle manière que l'extrémité, qui, dans les tubercules entiers, se trouvait du côté des feuilles de la plante, soit maintenant à l'opposé du milieu, vers le haut du tube.

Ces manipulations se font comme pour le prélèvement des tissus de Carotte, sur la table de verre agencée de la même manière.

Les cultures ainsi préparées sont disposées à l'obscurité, dans une étuve à 18°-20°.

III. — Techniques histologiques et cytologiques.

Afin de saisir les premiers stades de la dédifférenciation, il était nécessaire de fixer des échantillons pris un peu au hasard, avant l'apparition des bourgeons. Nous avons donc effectué de nombreuses séries de fixations échelonnées entre le quatrième et le vingt et unième jour de la culture. Pour chaque série, nous utilisions les mélanges de NAVACHINE, de HELLY, de REGAUD et de MEVES. Une partie des pièces fixées par le mélange de HELLY était traitée ensuite par la méthode de PARAT pour le chondriome. Les explantats à fixer étaient débités en tranches de 1 à 2 millimètres d'épaisseur, soit transversales, soit longitudinales radiales.

Il est utile de prendre, lors de l'inclusion, les mêmes précautions que pour l'inclusion des tissus de Carotte (Cf. p. 43).

Les cellules parenchymateuses ont été examinées sur des coupes de 7 à 10 μ d'épaisseur. L'étude des stades de dédifférenciation a exigé des coupes de 5 à 2 μ d'épaisseur, d'autant plus minces que les cellules étaient plus dédifférenciées.

La méthode fondamentale de coloration fut celle à l'hématoxyline de REGAUD, employée après tous les fixateurs précédents. Toutefois, les tissus de ces tubercules fournissent des préparations mitochondriales particulièrement claires après coloration par la fuchsine d'ALTMANN. Les études nucléaires ont nécessité, en outre, l'emploi de la réaction nucléaire de FEULGEN après les fixateurs de NAVACHINE et de HELLY.

Nos recherches ont été complétées par des observations vitales, exécutées sur coupes montées dans le liquide de RINGER, et par des réactions microchimiques élémentaires que nous signalerons au cours de notre exposé.

CHAPITRE II

ÉTUDE MORPHOLOGIQUE ET HISTOLOGIQUE

Avant d'aborder l'étude cytologique, il est indispensable de reconnaître l'origine des néoformations qui se produisent sur les explantats et en particulier l'origine des bourgeons. Nous esquisserons d'abord l'anatomie du tubercule normal et des prismes cultivés, puis nous passerons à l'étude anatomique des tissus néoformés et à l'histologie de l'origine et de l'édification des bourgeons.

I. — Anatomie des tubercules normaux.

Les racines d'Endive et de Chicorée à café se composent de deux parties principales : une région centrale, cylindrique et pleine, et une région

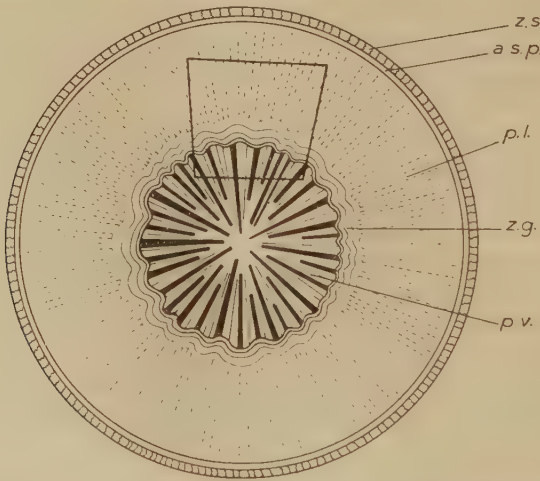


FIG. 53. — Schéma de la section transversale d'un tubercule de Chicorée à café. Le quadrilatère tracé en traits forts représente la section d'un explantat. (Explications dans le texte.) ($\times 3/2$.)

périphérique. Entre elles deux se trouve une zone génératrice libéroligneuse, d'où dérivent pratiquement tous les tissus du tubercule, qui sont donc d'origine secondaire.

En section transversale (fig. 53), la zone génératrice dessine une ligne grisâtre, très sinueuse, qui sépare le tissu central du tissu périphérique. Le

premier est un parenchyme renfermant des vaisseaux disposés côte à côte en lignes rayonnantes étroites, constituées d'une ou de deux rangées, de vaisseaux et séparées par des secteurs plus épais de parenchyme. Les vaisseaux sont souvent entourés de petites cellules de parenchyme vasculaire vrai, qui se lignifient rarement. Nous conviendrons de désigner toute la région centrale par l'expression de parenchyme vasculaire.

Le tissu externe est presque entièrement constitué par le liber secondaire ; il comprend surtout des cellules parenchymateuses, parmi lesquelles se trouvent des pseudo-laticifères sinueux et anastomosés en réseaux de plus en plus abondants de l'extérieur vers l'intérieur.

Enfin, dans la région superficielle, une assise subéro-phellodermique produit vers l'extérieur une fine couche de suber.

Des radicules nombreuses sortent de la surface du tubercule. Dans les prismes cultivés, elles ont été sectionnées lors de l'épluchage, et leurs bases, à l'intérieur des tissus de l'explantat, constituent des « rayons rhizogènes » comme chez les Carottes.

Au cours de la stérilisation et du prélèvement, les tissus les plus externes des tubercules et la région la plus interne du parenchyme vasculaire sont éliminés. Les prismes cultivés se composent donc de parenchyme libérien, de cambium et de parenchyme vasculaire, moyen et externe (fig. 53).

II. — Anatomie des néoformations de la région supérieure des explantats.

Avant le bourgeonnement, des tissus nouveaux se constituent à la partie supérieure des explantats. L'étude histologique de ces tissus a été

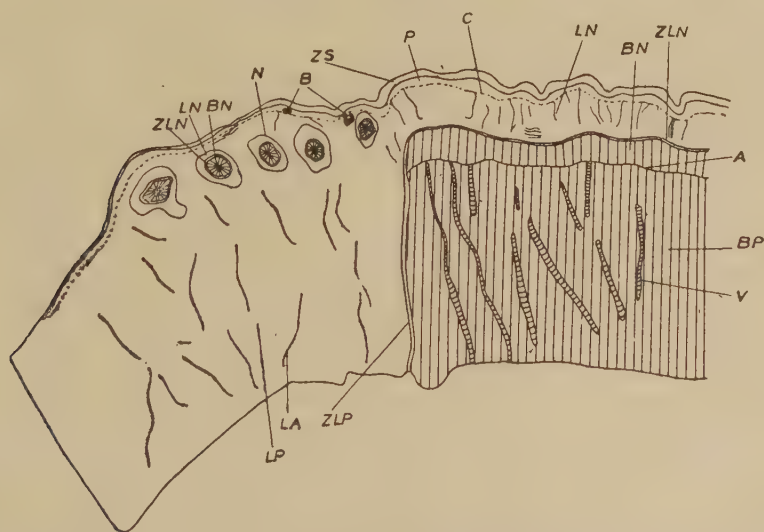


FIG. 54. — Anatomie du développement de la région supérieure des fragments. (D'après GAUTHERET ; explications dans le texte.)

faite par GAUTHERET sur des tranches de racines d'Endives. Nous ne résumerons ici que les résultats dont la connaissance est nécessaire à la suite de notre exposé.

GAUTHERET [98] a constaté qu'au début de la prolifération des tranches isolées une assise génératrice superficielle se différencie sur toute leur surface, recouvrant à la fois le parenchyme vasculaire et le parenchyme libérien (fig. 54, Z S). Cette assise est du type subéro-phellodermique; elle produit du parenchyme vers l'intérieur et du liège vers l'extérieur, lorsque l'atmosphère où se trouve la tranche est peu humide. Lorsque l'atmosphère est saturée, elle produit du parenchyme sur ces deux faces (P). Un peu plus tard, une zone génératrice libéro-ligneuse se forme en profondeur, mais seulement au-dessus du parenchyme vasculaire, et se raccorde avec la zone génératrice normale de la tranche (Z L N). Ce nouveau méristème secondaire produit du parenchyme vasculaire vers l'intérieur, donc au-dessus de l'ancien (B N) et du parenchyme libérien vers l'extérieur (L N). Enfin, d'autres formations libéro-ligneuses naissent dans le parenchyme libérien initial de la tranche et constituent des nodules néoformés très différents des tissus épais qui recouvrent le parenchyme vasculaire (N).

Ces néoformations se produisent de manière analogue dans les cultures de prismes, mais leur développement est plus lent et des bourgeons s'ébauchent souvent avant qu'il soit notable.

III. — Histologie du bourgeonnement *in vitro*.

DIVERSES ORIGINES DES BOURGEONS. — Au bout d'une douzaine de jours, la région supérieure des explantats comporte donc une assez grande diver-



FIG. 55. — Schéma d'une coupe radiale de la région supérieure d'un prisme après deux semaines de culture. — *p.l.*, parenchyme libérien; *p.v.* parenchyme vasculaire; *z.g.* zone génératrice. Cette dernière est surmontée d'un cal volumineux dans lequel naissent des bourgeons. D'autres proviennent plus directement des cellules cambiales et se forment au sommet d'un long cordon de cellules remaniées (dans la région médiane de la figure). D'autres naissent dans le parenchyme libérien (à gauche) et dans le parenchyme vasculaire (à droite); beaucoup de ces derniers se forment à l'extrémité des cordons vasculaires, à partir des petites cellules qui entourent les vaisseaux. ($\times 20$.)

sité des tissus, dont certains sont néoformés. L'observation de nombreux échantillons d'âges différents montre que tous ces tissus sont susceptibles de produire des bourgeons. Toutefois, certains d'entre eux en donnent plus fréquemment que d'autres et d'une manière plus précoce. Le tissu libérien primitif, la zone génératrice normale et le tissu libérien néoformé sont, avec le parenchyme vasculaire primitif, les tissus qui bourgeonnent le plus activement (fig. 55). Nous avons cependant trouvé des bourgeons issus du phelloderme et du parenchyme vasculaire néoformé.

Dans le parenchyme libérien, certains bourgeons naissent de grandes cellules parenchymateuses, parfois très éloignées du cambium, tandis que d'autres se forment à partir de cellules moins évoluées qui se trouvent au voisinage des pseudo-laticifères.

De même, dans le parenchyme vasculaire, ce sont soit de grandes cellules éloignées des vaisseaux, soit des cellules beaucoup plus petites et moins différenciées, entourant les vaisseaux, qui édifient des bourgeons. Ces derniers apparaissent fréquemment dans le prolongement des extrémités sectionnées des cordons vasculaires.

L'ÉDIFICATION DES MÉRISTÈMES. — Lorsque les bourgeons se forment aux dépens des cellules du cambium, ou des cellules entourant soit les pseudo-laticifères, soit les vaisseaux, ils se différencient au sommet de cordons longitudinaux de cellules qui prolifèrent jusqu'à une distance assez grande de la surface, de l'ordre de 2 à 5 millimètres, formant un massif allongé de petites cellules oblongues. Ces bourgeons sont généralement plus volumineux que ceux qui dérivent des grandes cellules parenchymateuses du liber ou de la région vasculaire, et leur croissance rapide peut inhiber le développement de ces derniers.

Les petits bourgeons dérivés des grandes cellules parenchymateuses se forment aux dépens d'un nombre très restreint de ces grandes cellules qui se cloisonnent plusieurs fois, de sorte que leur volume initial se remplit de très petits éléments. Comme dans le parenchyme libérien de Carotte, on distingue pendant quelque temps les parois plus épaisses des cellules initiales (fig. 56), mais ces membranes se déforment vite et se confondent avec les nouvelles.

Lorsque les premières initiales se sont cloisonnées, l'activité prolifératrice se propage aux cellules voisines, mais d'un seul côté du massif primitif. De ce côté, on trouve donc de grandes cellules dont le recloisonnement est de moins en moins avancé lorsqu'on s'éloigne de l'origine de la prolifération : on passe progressivement des petites cellules de l'ébauche aux grandes cellules du parenchyme (fig. 57). Du côté opposé, l'activité prolifératrice ne s'étend pas, et des petites cellules on passe sans transition aux grandes cellules du parenchyme : la région frontale du méristème est donc en discontinuité avec le parenchyme.

Cette discontinuité s'accroît de plus en plus, car les cellules frontales se divisent activement, perpendiculairement à la surface de l'ébauche, et forment une assise bien nette qui sera l'assise épidermique du futur méristème.

stème (fig. 58). L'ébauche de bourgeon présente donc très tôt un méristème frontal caractéristique, qui n'existe pas dans les ébauches radiculaires, où la présence d'une coiffe atténue toujours la discontinuité frontale. Il

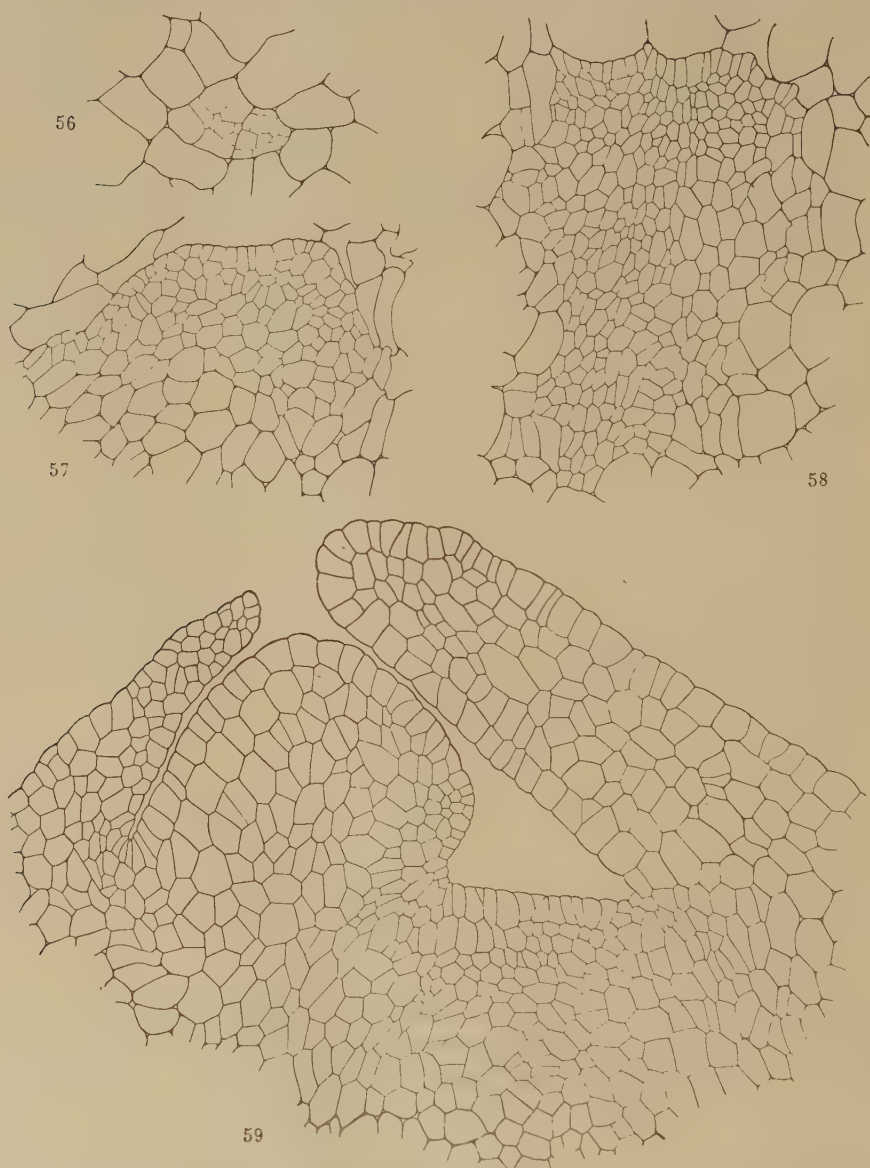


FIG. 56 à 59. — *Édification des méristèmes de bourgeons :*

FIG. 56. — Premiers cloisonnements des grandes cellules du parenchyme libérien.

FIG. 57. — Apparition précoce de l'assise épidermique du méristème, manifestant une polarité très accusée.

FIG. 58. — Stade plus avancé.

FIG. 59. — Méristème entièrement formé, avec ébauches foliaires. Remarquer le massif homogène de petites cellules, immédiatement au-dessous de l'assise épidermique. ($\times 250$.)

est donc possible de reconnaître de très bonne heure l'ébauche d'un méristème de tige, qui devient caractéristique avant que ce méristème soit achevé.

Sous l'assise frontale, qui est souvent plane au début (fig. 58), les cellules de l'ébauche se divisent activement, de sorte que le pôle méristématique devient parfois convexe. Sur ses bords s'élèvent bientôt des crêtes qui sont les ébauches des premières feuilles (fig. 59). Tandis que le développement du bourgeon se poursuit, les cellules méristématiques internes ne s'organisent pas en feuillets comme dans le cas des méristèmes radiculaires ; elles restent associées sous forme d'un massif homogène ; seule l'assise épidermique est distincte.

Les indices morphologiques de différenciation des tissus, qui sont surtout constitués chez les racines de phénomènes d'élongation cellulaire, se produisent beaucoup plus loin du pôle apical chez les bourgeons, où le massif méristématique garde donc un aspect inorganisé.

C'est de ce fait que résulte la structure particulière, en « bourgeon », c'est-à-dire le tassement des ébauches foliaires, les entre-nœuds restant longtemps très courts.

Toutefois, la jeune tige s'accroît suffisamment pour distendre et déchirer les tissus situés devant le bourgeon ; elle apparaît bientôt à la surface des tissus, et les premières feuilles se développent rapidement. A l'obscurité, elles se colorent en jaune ; si elles sont exposées ensuite à la lumière, elles verdissent en quelques heures.

Les tissus des racines d'Endive et de Chicorée produisent également des racines *in vitro*. Ces racines naissent au voisinage des rayons rhizogènes, et certaines au moins proviennent de la prolifération de méristèmes préexistants dans le tubercule normal.

Les comportements des prismes de racines d'Endive et de Chicorée à café sont très analogues. Il arrive cependant que les tissus de Chicorée à café fournissent des bourgeons en plus grand nombre ; nous avons donc fait de cette variété notre matériel principal.

En résumé, l'étude histologique précédente montre que la néoformation des bourgeons, qui se produit à partir de presque toutes les catégories cellulaires de la racine, comporte des phénomènes de dédifférenciation. Les méristèmes formés ont en effet les potentialités multiples nécessaires à l'édification de tiges feuillées. En outre, KWASNIKOV [155] (1937) a montré que ces tiges, bouturées, reproduisent des plantes entières qui fructifient normalement. A partir des cellules dédifférenciées, il est donc possible d'obtenir, *de novo*, une nouvelle lignée germinale : ce fait montre bien la régression physiologique totale des cellules primitives et nous autorise à entreprendre sur ce matériel des recherches cytologiques sur la dédifférenciation.

CHAPITRE III

RECHERCHES CYTOLOGIQUES

Nous commencerons l'exposé des recherches cytologiques par une description des divers types de cellules capables de se différencier. Nous suivrons ensuite la différenciation des cellules les plus évoluées du liber et du parenchyme vasculaire, puis nous traiterons par comparaison l'évolution régressive des autres types cellulaires.

Les descriptions qui vont suivre concernent les tissus de Chicorée à café. Nous n'avons d'ailleurs pas rencontré de différences sensibles dans les tissus d'Endive, que nous avons aussi longuement étudiés.

I. — Principaux types cellulaires du tubercule normal.

Ces divers types de cellules sont d'origine secondaire ; elles dérivent soit de zones génératrices libéro-ligneuses, soit d'assises subéro-phello-dermiques.

Structure des cellules de la zone génératrice libéro-ligneuse. — Les cellules de la zone génératrice libéro-ligneuse sont prismatiques, étroites et très allongées ; leur longueur est quatre à six fois plus grande que leurs dimensions transversales (Pl. XIX, fig. 5). Elles renferment une couche peu épaisse de cytoplasme pariétal et tout le centre est occupé par une grande vacuole dont le contenu n'est pas visible après les fixations et colorations habituelles. Le noyau a la forme d'un ellipsoïde aplati (Pl. XIX, fig. 5, vues de face et de profil). Il renferme un ou deux nucléoles et un réseau chromatique à mailles larges, mais portant des chromocentres (Pl. XXX, fig. 16). A l'état quiescent, le noyau est appliqué contre la membrane.

Le chondriome est formé surtout de mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets ; on y trouve encore quelques chondriocontes, mais les proportions de ces divers éléments sont variables avec l'état physiologique des cellules : tous sont parfois transformés en mitochondries granuleuses. Dans les cellules des zones génératrices dont l'activité est devenue très faible, on rencontre en outre des éléments plus volumineux, en formes de plastes globuleux ou allongés, mais très peu colorables. Ces éléments représentent effectivement des plastes peu différenciés où nous n'avons pas décelé de produits d'élaboration. Nous y reviendrons à propos des cellules du liber.

Structure des cellules du parenchyme vasculaire. — Les cellules de la région centrale du tubercule ont une structure variable selon la distance

à laquelle elles se trouvent de la zone cambiale d'une part et des vaisseaux d'autre part. Celles qui se trouvent immédiatement à l'intérieur du cambium et celles qui entourent les vaisseaux ont un chondriome très divisé, essentiellement formé de mitochondries granuleuses, plus grosses que celles du cambium, de quelques bâtonnets et de courts chondriocotes (Pl. XIX, fig. 4). En plus de ces chondriosomes, on trouve des plastes analogues à ceux des cellules cambiales, peu colorables, et ne présentant ni pigment, ni amidon, bien qu'ils paraissent souvent vésiculisés. Le noyau est semblable à celui des cellules de la zone génératrice.

Les grandes cellules du parenchyme vasculaire moyen renferment des chondriocotes plus allongés et des mitochondries encore abondantes (Pl. XIX, fig. 3). Plus les cellules considérées sont internes, plus elles présentent de longs chondriocotes et moins les mitochondries sont nombreuses (Pl. XIX, fig. 2, puis fig. 1). Simultanément, les plastes, toujours peu colorables, grossissent légèrement. Certains se divisent par étranglement et beaucoup se vésiculisent (fig. 1, Pl. XIX). Les plus longs chondriocotes se colorent parfois d'une manière hétérogène, ils présentent des punctuations très chromophiles reliées par des isthmes plus clairs, d'où leur aspect de chapelets (Pl. XIX, fig. 1).

Le cytoplasme est encore limité à une fine couche pariétale et à des trabécules qui se tendent à travers la grande vacuole unique. Le noyau a toujours la même structure que précédemment (Pl. XXX, fig. 15).

Structure des cellules du parenchyme libérien. — Le noyau des cellules du liber est semblable à celui des cellules cambiales (Pl. XXX, fig. 14). Il en est de même pour le cytoplasme et la vacuole. Quant au chondriome, il présente une évolution symétrique de celle que nous avons décrite pour le parenchyme vasculaire. Les cellules situées juste à l'extérieur du cambium renferment, comme celles du parenchyme opposé, des mitochondries granuleuses abondantes et de courts bâtonnets (Pl. XIX, fig. 7). Les plastes sont toujours peu colorables et prennent les formes de petites massues, d'haltères ou de virgules ; certains sont nettement vésiculisés, mais ne renferment pas d'amidon.

En observant des cellules plus externes, nous retrouvons l'allongement des chondriocotes, flexueux, présentant souvent des renflements et des étranglements. Ce sont les cellules où les plastes deviennent souvent le plus volumineux et où nous avons tenté d'en préciser la nature. Sur les préparations effectuées selon la technique de PARAT (Pl. XIX, fig. 1 à 8), qui fournissent des images très claires pour les chondriosomes, les plastes paraissent souvent vésiculisés. La méthode de REGAUD met encore mieux en évidence leur structure hétérogène et leur confère un aspect très comparable à celui d'amyloplast (Pl. XIX, fig. 9 et 10). La vésicule qui distend la substance plastidiale peut devenir très volumineuse et la partie colorable ne forme plus qu'une mince pellicule, comme cela se produit autour des grains d'amidon. Mais les figures observées ici ne fournissent aucune réaction à l'iode. La réaction xanthoprotéique n'y décèle pas de protides. Les réactions des lipides au soudan III, des mucilages au rouge

de ruthénium et des tanins au bichromate de potassium furent également négatives. Il ne nous a donc pas été possible de nous faire une idée positive de la composition de ces vésicules.

L'observation des tissus frais permet de les retrouver dans les cellules vivantes, où ils présentent les mêmes formes qu'après fixation. Ce sont des éléments à peine plus réfringents que le cytoplasme et qui ressemblent beaucoup à des chondriosomes en voie de cavulation. Toutefois, ce n'est qu'en prolongeant l'observation qu'on assiste effectivement à la cavulation des chondriosomes. Enfin, dans des cultures exposées à la lumière, nous avons pu faire apparaître de la chlorophylle sur ces organites particuliers du chondriome.

Ces observations et celles que nous apportera l'étude de la dédifférenciation montrent que les éléments peu colorables du chondriome représentent des plastes peu différenciés.

Structure des pseudolaticifères et des cellules voisines. — Les pseudolaticifères sont entourés de cellules très allongées rappelant les cellules cambiales, mais qui paraissent plus riches en cytoplasme et renferment souvent des produits de sécrétion analogues à ceux des laticifères ; ces produits forment dans le cytoplasme des précipités floconneux très colorables (Pl. XIX, fig. 6).

Le chondriome de ces cellules, très caractéristique, est constitué presque exclusivement de granulations sphériques ou ovoïdes, légèrement plus volumineuses que les mitochondries des cellules cambiales. On y trouve cependant quelques petits plastes et, çà et là, un long chondrioconte.

Ce sont donc, avec les cellules de la zone cambiale, les cellules les moins différenciées du tubercule. Les cellules vivantes les plus différenciées se trouvent dans les parenchymes vasculaire et libérien, à quelque distance du cambium.

Nous choisirons donc parmi les cellules du liber l'exemple typique de dédifférenciation que nous allons aborder maintenant. Les phénomènes seraient semblables pour les cellules du parenchyme vasculaire. La dédifférenciation de ces éléments peut être divisée en deux phases. Au cours de la première, les transformations les plus remarquables concernent le chondriome ; au cours de la seconde, les modifications du noyau, du cytoplasme et des vacuoles sont les plus frappantes. Ces deux phases se succèdent d'ailleurs très rapidement.

II. — La première phase de dédifférenciation. Le retour à l'état cambial.

1° Cellules du parenchyme libérien.

Les cellules du parenchyme libérien moyen ou externe étant les plus différenciées, leur dédifférenciation fournit la série évolutive la plus complète. En particulier, la première phase est spécialement développée. Elle est d'ailleurs très précoce et se produit pendant les six à dix premiers jours.

Nous décrivons successivement les modifications des plastes, puis des chondriosomes.

LA RÉGRESSION DES PLASTES. — Les plastes que nous avons signalés dans toutes les cellules du tubercule normal ne se retrouvent plus dans les cellules en voie de dédifférenciation. Leur régression s'opère très peu après le prélèvement des explantats ; elle est achevée au bout d'une dizaine de jours. Nous en décrivons plusieurs modalités.

a. *Dédifférenciation par élimination de la substance peu colorable des plastes.* — Au cours des premiers jours après le prélèvement, des plages très colorables apparaissent dans la substance, toujours faiblement colorée, de certains des plastes initiaux. La substance de ces plastes se sépare donc en deux parties (fig. 60) ; l'une d'elles, très colorable, paraît de constitution voisine de celle des chondriosomes ordinaires ; elle se disperse dans le cytoplasme, où elle constitue des éléments en forme de chondriosomes. L'autre partie se montre de moins en moins colorable et de plus en plus difficile à voir ; elle se déforme pendant quelque temps sous l'effet des mouvements du cytoplasme, où elle finit par s'effacer tout à fait. Nous retrouvons donc ici un cas de rajeunissement d'un organite cellulaire par expulsion des substances qui s'étaient adjointes à la substance fondamentale au cours de la différenciation.

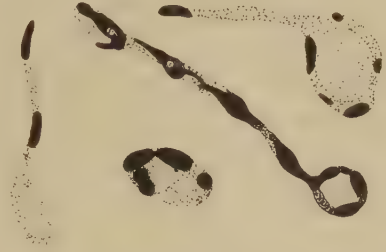


FIG. 60. — Régénération de la substance mitochondriale des plastes et sa séparation des substances résultant de leur différenciation. (Regaud-Hématoxyline.) (Explications dans le texte.)

b. *Dédifférenciation par élimination des vésicules plastidiales.* — Dans la plupart des cellules-initiales, beaucoup de plastes renferment une inclusion centrale peu colorable, qui représente peut-être un produit d'élaboration, entourée d'une pellicule de substance chromophile. Cette dernière seule est de nature mitochondriale, elle se prolonge souvent en appendice caudiforme, ou bien elle réunit plusieurs inclusions en une courte chaînette. Ces plastes ont alors un aspect vésiculeux (Pl. XIX, fig. 9 et 10). Souvent, leur substance mitochondriale se sépare du produit central peu coloré au cours de la régression. Dans ce cas, cette substance mitochondriale, plus colorable, se condense en petites masses restreintes à la surface de l'inclusion (Pl. XX, fig. 1, en particulier le plaste supérieur, à gauche). La condensation s'accroît si bien que la substance vivante découvre l'inclusion qu'elle englobait primitivement (Pl. XX, fig. 2, plaste supérieur de gauche ; fig. 3, les deux plastes du haut et le plaste inférieur). Par la suite, ces deux parties se séparent, libérant d'une part la substance colorable (Pl. XX, fig. 4 : plusieurs plastes dans la moitié supérieure de la cellule) et, d'autre part, les produits peu colorables, qui constituent des taches grisâtres peu apparentes (Pl. XIV, fig. 1, 4 et 5).

Ces dernières inclusions se déforment pendant quelque temps au gré des mouvements cytoplasmiques, et finalement disparaissent.

Ce processus rappelle la dédifférenciation des chromoplastes de Carotte, dans le cas où la substance plastidiale se condense en amas discontinus à la surface des cristaux de carotène : ceux-ci sont finalement abandonnés dans le cytoplasme. Dans le troisième mode, qu'il nous reste à examiner, nous retrouverons des processus analogues à la résorption du carotène à l'intérieur des chromoplastes.

c. La résorption des vésicules à l'intérieur des plastes. — Dans le cas précédent, le volume des inclusions reste constant, tandis que les plastes se transforment. Il arrive au contraire que les produits de la région centrale des vésicules se réduisent et disparaissent à l'intérieur des plastes. Dans ce cas, tandis que l'inclusion se réduit, la substance plastidiale s'épaissit et constitue finalement un plaste plein et homogène de forme très diverse (Pl. XX, fig. 2 et 3, autour des noyaux).

Que la partie peu colorable des vésicules ait été abandonnée dans le cytoplasme ou qu'elle se soit résorbée à l'intérieur des plastes, ceux-ci reviennent à des formes semblables. Ils se présentent comme de grands chondriocotes portant fréquemment des parties renflées qui sont les restes des régions précédemment vésiculisées (Pl. XX, fig. 2 et 3, et plaste inférieur de gauche de la figure 4, portant encore une petite vésicule). Ils peuvent également être piriformes ou globuleux et porter un appendice caudiforme (Pl. XX, fig. 2, cellule supérieure, à gauche ; fig. 3, au-dessus du noyau).

De toute manière, les plastes se distinguent encore nettement des chondriosomes par leurs dimensions sensiblement supérieures. Par la suite, ils subissent des divisions répétées, de sorte que les différences de taille avec les chondriosomes se réduisent peu à peu (Pl. XX, fig. 4, région supérieure à droite, et fig. 5, où il ne reste plus que quelques plastes bien distincts). Au bout de quelque temps, les plastes se trouvent donc dispersés dans le cytoplasme en éléments semblables aux chondriosomes, avec lesquels ils se confondent finalement : leur dédifférenciation se trouve ainsi achevée (Pl. XXI, fig. 1 à 4, où l'on trouve encore des restes des inclusions chromophobes).

ÉVOLUTION DES CHONDRIOSOMES AU COURS DE LA PREMIÈRE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION. — Tandis que les plastes se dédifférencient, les chondriosomes des cellules primitives commencent à se segmenter. Les mitochondries se divisent activement et les chondriocotes s'étranglent parfois en plusieurs points à la fois pour donner naissance à des éléments beaucoup plus courts (Pl. XX, fig. 1 à 5). A la fin de la régression des plastes, il arrive que le chondriome ordinaire soit déjà réduit à l'état de mitochondries et de très courts chondriocotes (Pl. XX, fig. 5) ; mais la dispersion du chondriome n'est pas toujours aussi avancée, en particulier s'il s'agit de parenchyme libérien relativement externe. Toutefois, peu après la régression des plastes, certains groupes de cellules se divisent activement et donnent

naissance soit à des zones génératrices néoformées, soit à des méristèmes primaires. La segmentation des chondriocotes devient alors plus rapide, et les courts bâtonnets qui en résultent manifestent une tendance générale à se ramasser et à s'épaissir en granules (Pl. XXI, fig. 1 à 3 et fig. 4 à 7 ; Pl. XXII, fig. 1 à 4). Cet aspect du chondriome, constitué d'éléments granuleux de dimensions légèrement supérieures à celles des mitochondries des cellules primitives, marque la fin de la première phase de dédifférenciation.

Cette coupure chronologique se dégage à la fois de l'étude cytologique et de l'étude histologique. En effet, beaucoup de cellules ne poursuivent pas leur dédifférenciation au delà de cette première étape, en particulier celles qui s'organisent en zones génératrices. Que cette organisation se produise ou non, la première phase conduit à des cellules cambiales. Quelques-unes d'entre elles, seulement, vont continuer à se dédifférencier pour édifier des méristèmes primaires de bourgeons.

Remarquons toutefois que, dans les régions les plus différenciées du liber ou du parenchyme vasculaire, la première phase de dédifférenciation est elle-même très limitée à quelques grandes cellules, de sorte que presque toutes subissent la seconde phase. L'ensemble de l'évolution ne présente alors qu'une discontinuité peu apparente.

2° La première phase de dédifférenciation dans les autres tissus de la racine

La première phase de dédifférenciation des cellules du parenchyme vasculaire est identique à celle que nous venons de décrire pour le liber.

Quant aux cellules de la zone génératrice, aux cellules qui l'avoisinent de chaque côté et aux cellules qui entourent les vaisseaux, leurs chondriosomes, initialement granuleux ou en courts bâtonnets, se modifient peu ; les transformations les plus notables consistent alors en la régression des petits plastes.

Parmi les tissus qui forment le cal, dans la région morphologiquement supérieure de l'explantat, le parenchyme libérien néoformé est le tissu qui bourgeonne le plus. Les cellules de ce parenchyme ont une structure cytologique analogue à celle des éléments du parenchyme libérien primitif (Pl. XXII, fig. 7). Dans le cytoplasme, réparti en une fine couche pariétale, se trouvent des mitochondries granuleuses, de courts bâtonnets, des chondriocotes et des plastes peu différenciés semblables à ceux que nous avons décrits à propos du liber ordinaire. Le noyau est petit et aplati contre la membrane. (Il est vu de face dans la figure 7, Pl. XXII.) Chaque bourgeon issu de ce tissu provient de la dédifférenciation d'un petit groupe très circonscrit de cellules, qui reviennent d'abord au type cambial comme celles des parenchymes normaux de la racine.

En résumé, la première phase de dédifférenciation conduit dans tous les cas à des cellules de type cytologique analogue à celui des méristèmes secondaires. Elle est donc d'autant plus importante que les cellules primitives sont plus évoluées au delà du type méristématique secondaire dont elle dérivent.

Par contre, plus les cellules primitives sont différenciées, plus la première phase se produit dans un petit nombre d'entre elles. Ainsi, elle est très localisée dans le parenchyme libérien, alors que les bourgeons formés aux dépens de la zone génératrice ou des cellules entourant les vaisseaux se trouvent à l'extrémité d'un massif allongé constitué d'un grand nombre de cellules remaniées.

C'est donc à partir de cellules d'un type uniforme, quel que soit le tissu d'où elles dérivent, que va se produire la seconde phase de dédifférenciation : cette dernière étape est commune à toutes les ébauches de bourgeons.

III. — La seconde phase de dédifférenciation. Le retour à l'état méristématique primaire.

Au cours de la première phase, les modifications structurales les plus importantes affectaient les plastes et les chondriosomes. Les transformations du noyau et du cytoplasme, qui étaient restées légères, vont prendre plus d'ampleur au cours de la seconde phase, tandis que le chondriome poursuit son évolution. Nous examinerons donc successivement le comportement des divers constituants cellulaires.

L'ÉVOLUTION DU NOYAU. — La forme et la structure du noyau se modifient peu au cours de la première phase, et le volume nucléaire demeure sensiblement constant. Dès le début de la seconde phase, au contraire, le noyau se raccourcit et s'épaissit ; il tend à devenir sphérique, tandis qu'il se déplace, depuis la paroi cellulaire contre laquelle il était appliqué jusque vers le centre de la cellule (Pl. XXI, fig. 5, 6 et 7 ; Pl. XXII, fig. 8 et 9). Ultérieurement les cellules qui constitueront les initiales méristématiques deviennent petites et très étroites, de sorte que le noyau, dont le volume ne diminue pas dans les mêmes proportions, devient nécessairement ellipsoïde ou ovoïde (Pl. XXII, fig. 5 et 9). Le volume nucléaire v passe de $120 \mu^3$ environ ($10 \times 6 \times 4 \mu$) dans les cellules du parenchyme primitif à $30 \mu^3$ environ dans les cellules de l'assise frontale du méristème ($5 \times 4 \times 3 \mu$). Il se réduit donc au quart de sa valeur initiale, alors que le volume cellulaire V passe de l'ordre de $30\,000 \mu^3$ à l'ordre de $225 \mu^3$, ce qui représente une réduction au $\frac{1}{130}$ de la valeur initiale. Le rapport $\frac{v}{V}$ passe de $\frac{1}{300}$ à $\frac{1}{10}$ environ. Le rapport nucléoplasmique est difficile à évaluer dans les cellules différenciées, car le cytoplasme forme de nombreuses trabécules en plus de la couche pariétale. L'épaisseur moyenne de celle-ci est de l'ordre de 1μ à $1 \mu 5$. En prenant la valeur minima 1μ , le rapport nucléoplasmique initial est au maximum de l'ordre de $\frac{1}{50}$; il devient voisin de $\frac{1}{10}$ environ à la fin de la dédifférenciation ; il augmente donc nettement.

La structure du noyau se modifie peu ; toutefois, la réaction nucléale de FEULGEN décèle un enrichissement en chromatine. Le réseau chromatique s'épaissit légèrement, mais il se charge de granulations plus serrées que dans les noyaux des cellules différenciées (Pl. XXX, fig. 17).

Toutes les divisions se font par mitoses typiques ; nous n'avons rencontré aucune anomalie nucléaire.

LES MODIFICATIONS DU CYTOPLASME ET DES VACUOLES. — Les premières segmentations des grandes cellules parenchymateuses entraînent peu de changements dans l'aspect du cytoplasme. A la fin de la première phase, les cellules renferment toujours une seule grande vacuole, et le cytoplasme forme une pellicule pariétale encore très fine. Toutefois, cette pellicule s'épaissit déjà à la fin de cette période, et les cellules se montrent plus riches en cytoplasme, relativement à leur volume. L'accroissement de la substance vivante du cytoplasme s'accroît dès le moment où le chondriome devient granuleux, moment qui marque la fin de la première phase. La grande vacuole commence alors à se segmenter (Pl. XXI, fig. 6).

En effet, lorsque le cytoplasme est devenu suffisamment abondant, les trabécules, toujours fréquentes, qui se tendent à travers la vacuole se montrent de plus en plus nombreuses. Certaines sont courtes et épaisses, d'autres sont flexueuses et ramifiées ; les mouvements de cyclose y sont très actifs. La quantité de cytoplasme s'accroissant toujours, les trabécules commencent à s'anastomoser latéralement ; elles constituent des rubans de plus en plus épais et larges, dont les bords rejoignent bientôt le cytoplasme pariétal, formant ainsi des nappes de cytoplasme qui divisent la vacuole en enclaves plus petites. Le phénomène se répète dans ces dernières vacuoles et les morcèle à nouveau.

Il se forme ainsi de nombreuses petites vacuoles, qui tendent à devenir sphériques (Pl. XXI, fig. 6 et 7 ; Pl. XXII, fig. 6 et 8). Par la suite, le volume de ces vacuoles se réduit, tandis que le cytoplasme, de plus en plus dense et abondant, occupe avec le noyau la majeure partie du volume des petites cellules devenues méristématiques. Les vacuoles sont alors déformées et prennent l'aspect de corps visqueux ayant subi des étirements ou des compressions (Pl. XXII, fig. 5 et 9).

Nous n'avons cependant recueilli aucun renseignement sur la concentration des vacuoles méristématiques, mais leurs formes sont identiques à celles que nous avons observées dans les exemples où les préparations montraient des précipités vacuolaires traduisant l'accroissement de concentration de ces enclaves.

L'ÉVOLUTION DU CHONDRIOME À LA FIN DE LA DÉDIFFÉRENCIATION. — Dans les cellules parvenues au terme de la première étape de différenciation, le chondriome est constitué de mitochondries granuleuses de forte taille. Ces éléments continuent à se diviser au cours de la seconde phase ; ils se transforment alors en chondriosomes, plus petits que les précédents, granuleux ou piriformes (Pl. XXII, fig. 4, puis fig. 5, 6, 8 et 9). A la fin de la régression des cellules, certaines mitochondries s'allongent, de sorte que

des bâtonnets et des chondriocotes réapparaissent dans les cellules méristématiques (Pl. XXII, fig. 5, 6, 8 et 9).

Cette fin d'évolution se traduit donc par trois caractères : la taille des chondriosomes diminue, ils deviennent beaucoup plus nombreux, et enfin des bâtonnets et des chondriocotes se reconstituent aux dépens de certains éléments transitoirement granuleux.

Tandis que s'achèvent ces régressions cytologiques, les massifs de petites cellules néoformées, à cytoplasme dense, s'organisent en méristèmes apicaux de tiges, reconnaissables de bonne heure à l'agencement de leurs cellules. En effet, on distingue bientôt l'assise superficielle des initiales épidermiques. C'est au centre de cette assise et dans le petit groupe de cellules sous-jacent que l'activité prolifératrice devient la plus intense et que les cellules subissent les processus extrêmes de la dédifférenciation. En particulier, c'est seulement dans cette région que les vacuoles prennent les formes étirées et ramifiées.

* * *

Nous avons assisté au retour graduel des cellules vivantes les plus différenciées des tubercules de Chicorée à café jusqu'à l'état de cellules à caractères embryonnaires, organisées en méristèmes apicaux de tiges. Les cellules de ces tubercules, qui dérivent de méristèmes secondaires, reviennent d'abord à l'état structural de ces méristèmes, puis elles retrouvent les caractères des cellules méristématiques primaires.

Ici encore, le chondriome réagit le premier, dès la reprise de l'activité cellulaire. Les modifications du cytoplasme et des vacuoles sont plus tardives, comme celles du noyau quiescent.

Les cellules dédifférenciées manifestent des potentialités assez étendues pour édifier tous les tissus de la tige. En bouturant les tiges néoformées, KWASNIKOV [155] (1937) a montré qu'elles s'enracinent et produisent des plantes entières, capables de fructifier. Ce développement d'un végétal complet à partir de quelques cellules différenciées appartenant à un même tissu est comparable, quant aux potentialités histogénétiques, au développement de la cellule-œuf et suppose une *dédifférenciation totale*. D'ailleurs, la fructification de ces boutures comporte la formation de cellules totipotentes à partir des cellules de leurs méristèmes apicaux.

CINQUIÈME PARTIE

LES PHÉNOMÈNES DE DÉDIFFÉRENCIATION DANS LE DÉVELOPPEMENT DES TUMEURS PRODUITES PAR *PHYTOMONAS TUMEFACIENS* SUR LA TIGE DE TOMATE (*LYCOPERSICUM ESCULENTUM* MILLER)

CHAPITRE PREMIER

INTRODUCTION ET TECHNIQUES

L'historique nous a montré que le problème de la dédifférenciation est beaucoup plus vaste qu'on ne le pense en général, si nous en croyons le peu d'attention qu'il a suscité jusqu'ici. Aussi, bien que notre étude reste sommaire, nous ne pouvions pas négliger d'y faire entrer des recherches sur les phénomènes de dédifférenciation provoqués par des excitations parasitaires.

Nous avons choisi le cas des tumeurs dues à une bactérie, *Phytophthora tumefaciens* SMITH et TOWNSEND, reconnue comme l'agent du *Crown-gall* depuis les travaux de E. F. SMITH et de ses collaborateurs [249, 250]. Ce type de tumeurs végétales est certainement le plus étudié depuis la publication des résultats de SMITH, et le grand intérêt que ces travaux ont suscité nous a fait souhaiter depuis longtemps d'entreprendre des recherches sur ce prétendu *cancer végétal*.

SMITH, en effet, fut frappé par les analogies entre le développement du *Crown-gall* et celui des cancers de l'Homme et des animaux. Il émit l'opinion que les tumeurs provoquées par *P. tumefaciens* ne seraient autres que des *cancers végétaux*, et que l'agent bactérien qu'il avait caractérisé ou des bactéries voisines pourraient être la cause des cancers animaux. Or, à propos de ces derniers, on a beaucoup parlé de rajeunissements cellulaires et de dédifférenciation. Nous avons vu que celle-ci n'est pas démontrée chez les cancers animaux, mais qu'elle est très nette dans certains *Crown-galls*. Ce fait montre donc une différence entre les deux types de tumeurs ; cependant la question de l'homologie entre le *Crown-gall* et le cancer ne paraît pas avoir été abordée de ce point de vue, et, parmi les nombreux travaux effectués en vue de trouver des analogies ou des différences, très peu comportent de la cytologie. Ces rares études cyto-

logiques (WINGE [289], LEVINE [165], KOSTOFF [149]) concernent toutes le noyau, et nous n'avons rencontré aucune étude importante sur les autres constituants cellulaires.

Il nous paraissait donc intéressant d'entreprendre des recherches sur la cytologie des tumeurs végétales, mais nous devions nous limiter ici à l'étude des processus de dédifférenciation. Toutefois nous serons amené à signaler quelques phénomènes connexes, qui paraissent trop importants pour que nous les négligions.

MATÉRIEL ET TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE. — Nous avons choisi la Tomate comme matériel d'étude, en raison de la rapidité avec laquelle les tumeurs s'y développent, et parce qu'elles forment facilement des massifs de petites cellules dont certaines s'organisent en méristèmes.

D'autre part, les tumeurs de Tomate sont à peu près exemptes de tissus subérifiés, qui entravent la fixation et la confection des coupes fines.

Pour produire les tumeurs, la plupart des auteurs ont opéré par piqûre de l'organe et injection de la culture bactérienne, ou bien par badigeonnage de tiges décapitées. Dans ces conditions, tous les tissus sont atteints par la bactérie et réagissent plus ou moins selon leurs aptitudes. En général, la zone génératrice réagit le plus vivement et produit l'essentiel de la tumeur.

Les cellules de la zone génératrice étant peu différenciées, nous avons cherché à obtenir des tumeurs à partir d'éléments plus évolués de la tige. Pour cela, au lieu d'opérer par piqûre, nous avons pratiqué des blessures superficielles en grattant légèrement la surface de la tige au moyen d'un scalpel. Nous avons pu, de cette façon, ne blesser que l'épiderme et l'assise sous-épidermique. Sur la plaie ainsi produite, nous déposons immédiatement une goutte de la culture bactérienne, qui se maintenait en place jusqu'à sa dessiccation, par suite de sa tension superficielle.

Nous pratiquions cette opération sur les jeunes entre-nœuds présentant une longueur de 5 à 10 millimètres et un diamètre de 4 millimètres. La plaie avait environ 3×3 millimètres. Les cellules de ces entre-nœuds sont déjà différenciées ; la plupart ont cessé de se diviser activement et ne subissent plus guère que des processus de croissance.

La souche de *Phytomonas tumefaciens* nous a été fournie par les services de l'Institut Pasteur.

TECHNIQUES HISTOLOGIQUES ET CYTOLOGIQUES. — Nous avons fait de nombreuses fixations échelonnées entre le sixième et le cinquante-deuxième jour après l'infestation. Chaque série comportait l'emploi des fixateurs de NAVACHINE, de HELLY, de REGAUD et de MEVES. Les pièces portant les tumeurs étaient découpées en tranches ou en secteurs cylindriques.

La plupart des observations ont été faites sur des coupes de 4 à 6 μ d'épaisseur. L'étude de la fin de la dédifférenciation a nécessité des coupes plus fines, de 2 et 3 μ . Comme dans la première partie de nos recherches, la lignification de certains tissus fut

un sérieux obstacle. Le tissu vasculaire de la tige et, dans les tumeurs âgées, les tissus lignifiés qui se différencient au centre des néoformations ont dû être éliminés, comme il est dit page 53. L'extirpation de ces tissus n'élimine pas les cellules en voie de dédifférenciation, qui sont plus externes.

Ces recherches ont été complétées par de nombreuses observations et colorations vitales, et par des réactions histochimiques.

CHAPITRE II

ÉTUDES MORPHOLOGIQUES ET HISTOLOGIQUES

I. — Aspects morphologiques du développement des tumeurs.

Après sa dessiccation, la goutte pendante de culture bactérienne se réduit à une fine pellicule à la surface de la plaie, qui se cicatrise rapidement.

Le jeune entre-nœud s'accroît en longueur et en épaisseur, et la blessure s'allonge et s'élargit. Elle peut atteindre de 10 à 40 millimètres de longueur sur 4 à 8 millimètres de largeur.

Les excroissances se développent le long des bords latéraux de la cicatrice et non sur sa surface même. Les premières apparaissent au bout d'un temps très variable avec les conditions locales de l'infestation (dix à trente jours).

Après une croissance assez longue, de l'ordre de deux mois, de petits organes feuillés apparaissent à la surface de certaines tumeurs. Le plus souvent, ils se développent très peu, probablement par suite du manque d'organisation des tissus sous-jacents, et, en particulier, des tissus conducteurs qui devraient assurer leur nutrition. Il arrive pourtant, çà et là, que certains se développent presque normalement (fig. 61).



FIG. 61. — Tumeur internodale portant des bourgeons, généralement très petits; l'un d'eux, toutefois, se développe presque normalement. (D'après une photographie, grandeur naturelle.)

Remarquons que les tumeurs produites par inoculation *dans les nœuds* de la tige deviennent beaucoup plus volumineuses et forment plus fréquemment des organes feuillés. Mais, en raison de la préexistence de cellules méristématiques dans ces régions, nous n'avons pas étudié ces tumeurs afin de ne pas confondre les méristèmes provenant directement du méristème apical et ceux formés par dédifférenciation de cellules adultes.

II. — Phénomènes histologiques.

Les réactions histologiques qui suivent la contamination de la blessure sont de deux sortes. Elles comprennent, d'une part, des *processus de cica-*

trisation, consécutifs du traumatisme, et, d'autre part, des *processus de prolifération*, qui conduisent à la production des tumeurs et sont dus à la bactérie.

PROCESSUS DE CICATRISATION. — En grattant la surface de la tige avec le scalpel, on atteint l'épiderme, l'assise sous-épidermique et quelques cellules de l'assise externe du collenchyme. Les cellules endommagées, même légèrement, meurent très vite, et ce sont les cellules indemnes les plus externes qui manifestent les premières réactions, en se cloisonnant parallèlement à la surface de la blessure (fig. 70). Il se forme ainsi, à partir de chaque cellule primitive, une file de cellules plates, perpendiculaires à la

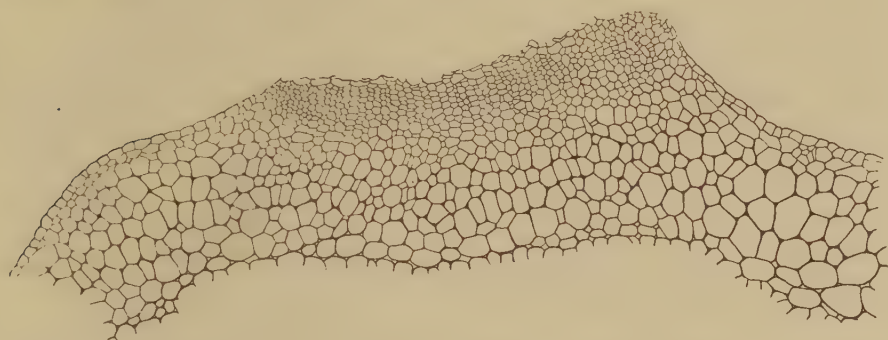


FIG. 62. — Coupe transversale dans la cicatrice, montrant les assises du périoderme, soulevé en une sorte de plateau au-dessus de la tige. ($\times 50$.)

surface de la blessure. Ces petites cellules s'accroissent en épaisseur, de sorte que la région blessée se soulève au-dessus de la surface de la tige (fig. 62). Les tissus de cicatrisation présentent alors l'aspect de tissus subérifiés secondaires, produits habituellement par une assise génératrice subéro-phellodermique, mais seules les assises les plus externes se subérifient légèrement, et presque toutes les cellules restent vivantes. Ces processus ne conduisent donc pas à des cellules profondément dédifférenciées, mais seulement à la constitution d'un périoderme.

PROCESSUS DE PROLIFÉRATION CONDUISANT À L'ÉDIFICATION DES TUMEURS. — Sur les bords de la blessure, il existe une zone étroite où les cellules de l'assise sous-épidermique restées intactes subissent des cloisonnements parallèles et concourent à la formation du périoderme. Mais, un peu au delà des bords de la cicatrice, des cloisonnements orientés dans tous les sens se produisent de place en place à partir d'un très petit groupe de cellules sous-épidermiques (fig. 63, *a*). Les mitoses peuvent gagner ensuite les cellules épidermiques et les cellules externes du collenchyme, et l'ensemble forme un petit massif cellulaire qui fait bientôt saillie sur le bord de la cicatrice (fig. 63, *b*). Les cellules d'origine sous-épidermique prolifèrent de beaucoup le plus activement et constituent un petit nodule,

légèrement aplati du côté interne, mais sensiblement hémisphérique sur la face externe (fig. 64).

Les cellules de cette jeune tumeur paraissent d'abord toutes semblables et forment un tissu homogène, mais, tandis que la tumeur s'accroît par prolifération désordonnée, certaines cellules centrales grandissent, et leurs membranes se chargent d'épaississements réticulés qui se lignifient (fig. 64). Ces éléments rappellent les cellules à parois réticulées que GAUTHERET a décrites dans les cultures de tissus [100]. Par la suite, dans les régions externes de la tumeur, des *zones génératrices* irrégulières se constituent

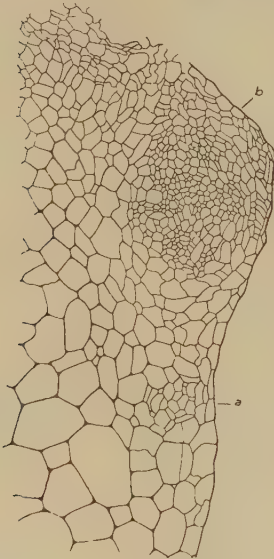


FIG. 63. — Fragment de coupe transversale montrant le début de la formation des nodules tumoraux sur le bord de la cicatrice (visible en haut). — *a*, premiers cloisonnements de l'assise sous-épidermique; *b*, plus près de la cicatrice: nodule plus avancé. ($\times 75$.)

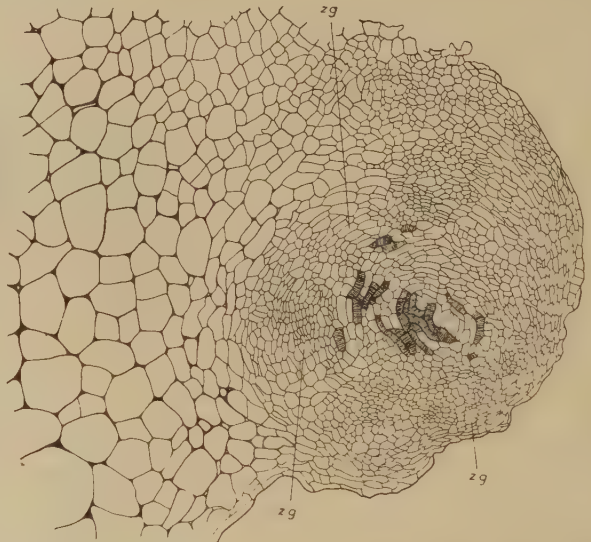


FIG. 64. — Nodule tumoral plus avancé. Bord de la cicatrice en haut. Remarquer que la zone collenchymateuse de l'écorce moyenne est à peu près inchangée. Quelques cellules du collenchyme, les plus externes, commencent à se recloisonner pour s'incorporer à la tumeur. — *Z. g.*, zones génératrices fragmentaires néoformées. ($\times 75$.)

(fig. 64, *z. g.*). Certaines se forment à partir de cellules tumorales périphériques, mais, dans la région attenante à la tige, des cellules normales de l'écorce peuvent se transformer en cellules de zones génératrices. La tumeur s'accroît donc, d'une part au moyen de la *prolifération de ses propres cellules* et, d'autre part, *en induisant de nouvelles cellules saines de l'hôte à proliférer* et à s'incorporer à l'excroissance. Dans ce dernier cas, il s'agit d'une sorte d'*accroissement par apposition*, qui d'ailleurs reste très limité, car les tumeurs que nous étudierons atteignent rarement les assises internes de l'écorce. L'endoderme et les tissus du cylindre central, en particulier la zone génératrice, dont la prolifération fournit l'essentiel des tumeurs obtenues par piqûre, ne réagissent pas dans le cas présent.

Au voisinage du premier nodule tumoral, d'autres se différencient plus tard, toujours aux dépens de l'assise sous-épidermique en premier lieu (fig. 63, *a*). Pendant leur développement, des cellules corticales de l'écorce moyenne prolifèrent souvent et forment un tissu de grandes cellules qui agglomèrent entre eux les divers nodules. Ces derniers grossissent par suite du fonctionnement des zones génératrices, qui forment par endroits des files radiales plus ou moins régulières de cellules parenchymateuses. En outre, ces cellules continuent souvent à proliférer dans les régions superficielles ; leur disposition en files s'efface alors bientôt, de sorte que les tissus externes des tumeurs âgées renferment des massifs de petites cellules d'aspect homogène (fig. 66).

C'est dans ces massifs, ou à leur surface externe, que se différencient des méristèmes de bourgeons, plus ou moins bien constitués (fig. 65). Leur apparition est caractérisée par une recrudescence localisée de la prolifération et par l'orientation des mitoses.

Lorsque l'ébauche de méristème se forme à l'intérieur d'un massif, quelques cellules se divisent plusieurs fois dans le même sens et constituent une assise de petites cellules étroites (fig. 67). Les mitoses ne continuent activement que dans la région située d'un seul côté de cette assise. Il

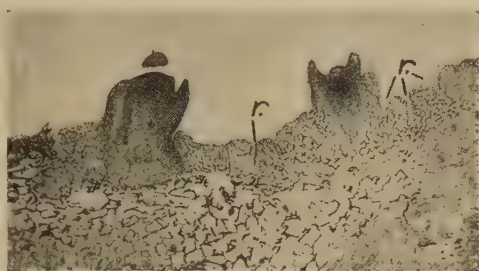


FIG. 65. — Microphotographie de la région périphérique d'une coupe transversale de tumeur âgée, montrant la néoformation de bourgeons, ainsi que des replis (*r*) de l'assise superficielle, où les cellules se cloisonnent activement. ($\times 20$.)

s'établit donc du côté opposé une discontinuité comparable à celle que nous avons décrite à propos des cultures de tissus de Chicorée à caé (Cf. p. 55). Cette discontinuité s'accuse bientôt par la formation d'une lacune entre l'assise frontale et le tissu inactif (fig. 68). En général, l'ébauche méristématique ne se développe guère au delà.

Lorsque le méristème se développe en surface, ou le long d'un repli des tissus superficiels, on observe de même les divisions orientées, cette fois perpendiculaires à la surface, qui donnent naissance à la future assise épidermique du bourgeon (Pl. XXVIII, fig. 4 et 5). Les cellules sous-jacentes se divisent également, mais dans toutes les directions, et produisent un massif de petites cellules qui soulève l'assise frontale et forme un petit mamelon à la surface de la tumeur. Sur cette petite excroissance, une, puis deux ébauches foliaires se dessinent peu à peu (fig. 69), et le méristème devient assez fonctionnel pour édifier un rameau, généralement très court, mais qui parfois se développe à peu près normalement (fig. 61).

Le développement des tumeurs entraîne donc la différenciation de deux types au moins de cellules corticales : les cellules sous-épidermiques et les cellules externes du collenchyme, les premières étant les plus actives. Au cours de la prolifération de ces éléments, certaines cellules prennent

les caractères histologiques des méristèmes secondaires, puisqu'elles s'agencent en zones génératrices. De ces zones génératrices dérivent de petites cellules qui passent à l'état méristématique primaire en édifiant des méristèmes apicaux de tiges. A partir de cellules sous-épidermiques, parvenues à l'état de maturité, se sont donc formées des cellules dédiffé-



FIG. 66 à 69. — Stades de néoformation des méristèmes de bourgeons à partir des tissus de la tumeur :

FIG. 66. — Début de formation d'un massif homogène de petites cellules.

FIG. 67. — Massif plus avancé, où se différencie déjà une assise régulière, surmontée d'une lacune.

FIG. 68. — Stade ultérieur, l'assise frontale qui formera les initiales épidermiques est bien différenciée ; les cellules sous-jacentes se divisent en tous sens.

FIG. 69. — Très jeune bourgeon, avec méristème définitivement constitué d'une assise épidermique et d'un massif homogène de petites cellules sous-jacentes, et trois ébauches foliaires, la dernière se séparant à peine du méristème principal (sur sa gauche). ($\times 250$.)

renciées, voisines des cellules embryonnaires et présentant des potentialités étendues.

D'autre part, des cellules collenchymateuses peuvent être remises en activité mitotique et incorporées au nodule tumoral. Leurs descendantes s'agencent en zones génératrices et sont donc dédifférenciées jusqu'au stade méristématique secondaire.

Nous étudierons en détail l'évolution cytologique de ces deux types de cellules, mais, avant d'en terminer avec l'histologie, il nous faut encore

signaler un fait qui apparaît comme une conséquence du développement des tumeurs : la formation de racines adventives dans leur voisinage.

RHIZOGENÈSE CONSÉCUTIVE A L'INFESTATION. — Nous avons vu, au début de la première partie, que la Tomate produit très facilement des racines adventives le long des entre-nœuds de la tige, soit spontanément, soit à la suite d'interventions expérimentales. Cette propriété en fait un

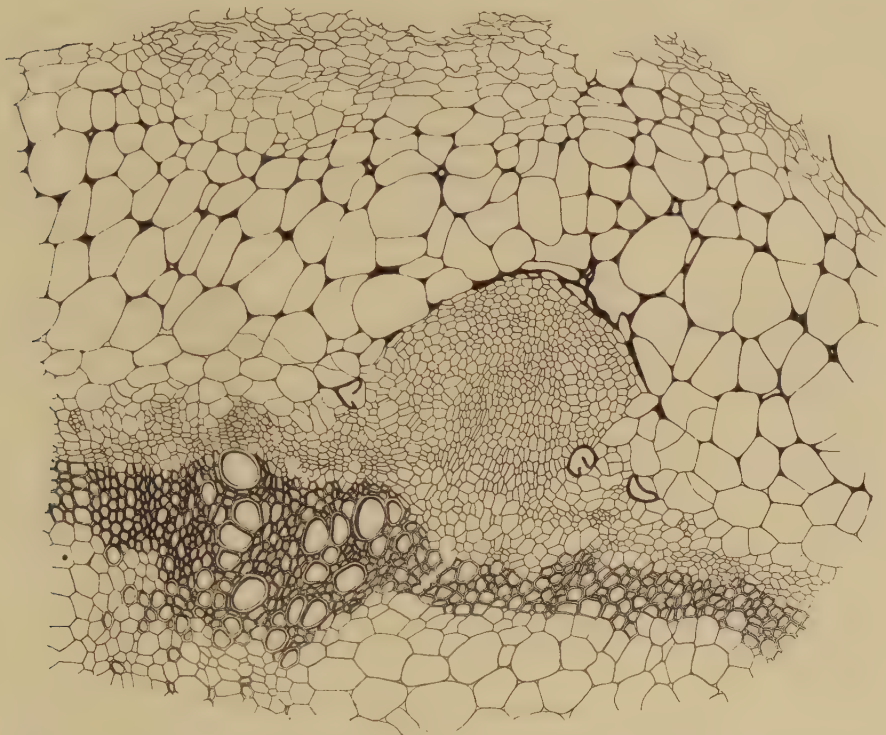


FIG. 70. — Coupe transversale d'un entre-nœud traité par la Bactérie. Cicatrice en haut, commençant à englober des cellules de collenchyme. On voit bien sur son bord gauche la participation des cellules sous-épidermiques. En bas, un faisceau libéro-ligneux et, sur son bord, une ébauche racinaire, en voie de formation aux dépens du péricycle et du liber. Remarquer l'entrave que constituent les fibres péricycliques dont les membranes épaissies sont représentées en noir. ($\times 85$.)

matériel de choix pour éprouver le pouvoir rhizogène d'un facteur quelconque, à condition toutefois de ne conclure qu'après comparaison avec des témoins.

Le pouvoir rhizogène des tumeurs est très net, car les ébauches radiculaires apparaissent dans les régions de la tige voisines du sommet, où il ne s'en forme pas spontanément. En plus du contrôle fourni par les témoins, il est significatif de remarquer que les ébauches se développent en grand nombre au-dessous de la cicatrice, dans l'entre-nœud blessé, alors que les entre-nœuds voisins n'en montrent pas. En raison de la sèche-

resse de l'atmosphère, les « primordiums » ne percent pas la tige et restent sous forme de petits mamelons semblables à ceux que nous avons décrits dans la première partie de notre exposé. Ces renflements simulent de jeunes nodules tumoraux et font penser à des *tumeurs secondaires* analogues aux *métastases* des cancers animaux, mais l'étude histologique ne permet pas de les confondre avec de véritables tumeurs.

En effet, cette étude montre qu'il s'agit bien de méristèmes radiculaires, issus, comme ceux décrits plus haut, de la prolifération de cellules péricycliques et de cellules avoisinantes (fig. 70). Les ébauches sont encore surmontées de cellules corticales hypertrophiées et recloisonnées.

Il arrive d'ailleurs que les racines prennent naissance sous la tumeur elle-même et se développent à l'intérieur de ses tissus.

Indépendamment des processus propres au développement des tumeurs, celles-ci induisent donc d'autres différenciations qui concernent principalement les cellules péricycliques, libériennes et endodermiques, et conduisent à l'édification de méristèmes radiculaires.

Remarquons que ce pouvoir rhizogène des tumeurs est en accord avec l'hypothèse selon laquelle *Phytomonas tumefaciens* tiendrait ses propriétés « cancérogènes » de celle de produire de fortes doses d'auxines, ou peut-être d'hétéro-auxines. Certains auteurs (LINK, WILCOX et LINK [173]) auraient décelé la production d'acide indole- β -acétique dans les cultures pures de cette bactérie sur milieux contenant du tryptophane.

Cette étude histologique nous a montré quelles sont les cellules qui se différencient ; nous pouvons aborder maintenant leur évolution cytologique. Toutefois, cette évolution étant causée par des bactéries, nous devons nous assurer que certains éléments figurés des cellules, plus ou moins bacilliformes, n'ont pas été confondus avec ces microorganismes. Nous ferons donc suivre l'exposé cytologique d'une étude sur la pénétration et la localisation des bactéries dans les tissus de la tumeur.

CHAPITRE III

ÉTUDE CYTOLOGIQUE DES PROCESSUS DE DÉDIFFÉRENCIATION RELATIFS AU DÉVELOPPEMENT DES TUMEURS

L'étude histologique du développement des tumeurs montre que la descendance des cellules issues de l'assise sous-épidermique comprend des tissus méristématiques secondaires. Ce retour au type cambial constitue une première phase de la dédifférenciation, et ce sont des cellules dérivées des zones génératrices qui continuent à se dédifférencier et reviennent au type structural des cellules de méristèmes primaires de tiges, parcourant ainsi la seconde étape de leur régression. Après avoir décrit les caractères cytologiques des cellules primitives, nous étudierons successivement ces deux phases et nous ajouterons quelques observations sur les principales déviations évolutives, qui contribuent trop à donner aux tissus de la tumeur leurs caractères particuliers pour que nous puissions les passer sous silence. Nous donnerons enfin quelques indications sur la dédifférenciation des cellules du cylindre central qui édifient les ébauches radiculaires.

I. — Caractères cytologiques des cellules primitives.

LES CELLULES ÉPIDERMiques. — Les cellules de l'épiderme prolifèrent à la surface des jeunes tumeurs, mais cette activité demeure faible et dure peu. Nous ne nous y attarderons donc pas.

LES CELLULES DE L'ASSISE SOUS-ÉPIDERMique ET DU COLLENCHYME. — A part les caractères du noyau, qui est semblable aux noyaux diploïdes de la plupart des cellules de la tige (Pl. XXX, fig. 19), la structure cytologique des cellules de l'assise sous-épidermique est analogue à celle que nous avons décrite page 61 pour les cellules de collenchyme, surtout dans les entre-nœuds jeunes qui nous intéressent ici. Toutefois les chloroplastes, lenticulaires, sont plus grands et plus pigmentés dans les cellules sous-épidermiques.

Ajoutons que, lorsqu'on essaie d'arracher l'épiderme, on enlève en même temps des lambeaux de l'assise sous-épidermique, qui est peu adhérente au collenchyme. Sur ces lambeaux, nous avons fait de nombreuses observations vitales. La plupart des constituants cellulaires sont bien visibles dans les cellules sous-épidermiques vivantes, en particulier les mitochon-

dries granuleuses et les chondriosomes bacilliformes. Ce chondriome est très résistant, et nous avons pu conserver pendant près d'une heure des préparations colorées vitalement au vert Janus. Nous avons observé, d'autre part, que le fixateur de NAVACHINE conserve parfois le chondriome des cellules corticales sans l'altérer sensiblement. Nous insistons donc sur le fait que ce chondriome *ne se cavule pas facilement*.

II. — La première phase de dédifférenciation : le passage au type méristématique secondaire.

Comme dans les cas précédents, au début de la dédifférenciation les modifications intracellulaires les plus remarquables se manifestent sur les plastes et les chondriosomes, tandis que les autres éléments ébauchent à peine l'évolution qui se poursuivra au cours de la seconde phase. Nous n'étudierons donc ici que les chondriosomes et les plastes. Par contre, nous aurons à distinguer le cas de la formation de l'ébauche primordiale et le cas de l'incorporation à la tumeur des cellules corticales voisines, par *apposition*.

A. — LA DÉDIFFÉRENCIATION DES PREMIÈRES CELLULES DE L'ÉBAUCHE.

Les premières cellules qui prolifèrent et se dédifférencient appartiennent à l'*assise sous-épidermique*.

L'ÉVOLUTION DES CHONDRIOSOMES. — Avant même les premières mitoses, les chondriosomes trahissent l'apparition d'une activité nouvelle dans les cellules qui vont se dédifférencier. Ils se gonflent, puis se vésiculisent et présentent alors une région centrale non colorable, qui n'est certainement pas constituée d'amidon, mais dont nous n'avons pas pu préciser la nature. Ce processus rappelle en tout point la vésiculation que nous avons décrite à propos des cellules du périecyle, de l'endoderme ou du liber (Cf. p. 65 et suiv.). Vers la fin de la première phase, la région centrale non colorable se résorbe et les chondriosomes redeviennent homogènes. Ils sont d'abord gonflés (Pl. XXIII, fig. 9 à 11), puis leurs dimensions diminuent à la suite de divisions répétées (Pl. XXIII, fig. 13 à 19), de sorte que les cellules de la fin de cette phase renferment de nouveau des mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets semblables à ceux des cellules primitives (Pl. XXIII, fig. 20 à 22).

Dans ce cas encore, nous nous sommes assuré par l'observation vitale que cette vésiculation n'est pas une altération comparable à la *cavulation*. Les vésicules sont visibles dans les cellules vivantes (Pl. XXIX, fig. 1 à 4), parmi des chondriosomes normaux, et se colorent au vert Janus sans altération. Ces colorations se conservent longtemps, comme dans les cellules primitives, *sans que les chondriosomes non vésiculisés se cavulent*.

LA DÉDIFFÉRENCIATION DES CHLOROPLASTES. — Les chloroplastes se modifient rapidement dès les premières mitoses. Leurs grains d'amidon se résorbent très vite à l'intérieur de la substance plastidiale, puis les chloroplastes commencent à se diviser activement par étranglements suivis d'étirements (Pl. XXIII, fig. 3). La région étirée s'allonge parfois beaucoup et forme des filaments très fins qui réunissent les deux moitiés des plastes ou leur constituent un long appendice après sa rupture (Pl. XXIII, fig. 4 à 6, 9 à 11, 16, etc...). Le morcellement des chloroplastes est parfois assez actif pour qu'un même élément porte une succession d'étranglements, ce qui lui donne une forme caractéristique (Pl. XXIII, fig. 3, 4, 6). Après son isolement, chaque région renflée devient un chloroplaste plus petit que celui dont elle dérive. La répétition de ces divisions conduit donc à des plastes de taille décroissante, fusiformes, piriformes ou granuleux (Pl. XXIII, fig. 5 à 15). Le contraste entre ces plastes et les chondriosomes s'affaiblit peu à peu (Pl. XXIII, fig. 16 à 20), et, vers la fin de la première phase, les anciens chloroplastes ont l'aspect de mitochondries et de chondriocotes légèrement plus gros que ceux du chondriome banal. Ils continuent à se diviser activement (Pl. XXIII, fig. 17, 19, 20), de sorte qu'ils finissent par se confondre tout à fait avec les chondriosomes ordinaires (Pl. XXIII, fig. 21, 22).

L'observation vitale montre que la chlorophylle disparaît très progressivement au cours de cette évolution. Les plastes parvenus au stade représenté sur les figures 15 et 16 (Pl. XXIII) n'en montrent plus.

B. — LA DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES CORTICALES VOISINES DES TUMEURS.

La tumeur naissante, encore constituée d'un petit nombre de cellules, ne renferme donc plus de chloroplastes. A la fin de ce premier temps de son développement, les cellules périphériques se cloisonnent tangentielle-ment à sa surface et construisent des zones génératrices plus ou moins irrégulières. Sur le bord interne de la tumeur, il arrive que les cellules corticales, encore peu évoluées en cellules de collenchyme, se différencient, s'incorporent à la tumeur et forment également des zones génératrices. Ces éléments subissent donc intégralement la première phase de différenciation, menant au stade méristématique secondaire.

LA DÉDIFFÉRENCIATION DES CHLOROPLASTES. — Elle se produit de la même manière que dans le cas des cellules sous-épidermiques, mais elle est plus lente, plus ménagée, et permet de saisir plus facilement des figures intermédiaires (Pl. XXIV, fig. 1 à 7). En outre, les plastes en voie de division s'étirent moins et deviennent plus globuleux. A la fin, ils reviennent à l'état de mitochondries granuleuses, mais ils restent distincts de la plupart des chondriosomes, car ces derniers se sont allongés en chondriocotes, ce qui n'arrivait pas dans le cas précédent.

L'ÉVOLUTION DES CHONDRIOSOMES. — Nous retrouvons le processus de vésiculation réversible au début de l'évolution (Pl. XXIV, fig. 1), mais la résorption de la substance incolore du centre des vésicules est rapide. Les chondriosomes se retrouvent alors sous forme de mitochondries de forte taille ou de chondriocotes épais, encore relativement courts (Pl. XXIV, fig. 2). Dans la plupart des cas, les chondriosomes évoluent en bâtonnets puis en chondriocotes flexueux (Pl. XXIV, fig. 3 à 7). De telles formes n'existent normalement dans aucune cellule de la tige de Tomate, où les chondriosomes sont habituellement très courts, granuleux ou bacilliformes. Le phénomène s'exagère encore dans les cellules qui s'agencent en zones génératrices. Ils forment alors de longs éléments sinueux, qu'il est inaccoutumé de rencontrer dans les cellules des méristèmes secondaires (Pl. XXIV, fig. 8). Les plastes, tant qu'ils restent distincts des mitochondries, ne subissent pas cet allongement et demeurent granuleux.

Lorsque la tumeur est parvenue à un certain développement, les cellules des zones génératrices qu'elle renferme ont toutes tendance à acquérir cette structure, quelle que soit leur origine. Ce fait paraît se produire lorsque les cellules génératrices ne prolifèrent plus que très lentement, et l'allongement des chondriosomes est peut-être en rapport avec le ralentissement de l'activité des cellules.

A l'appui de ce rapprochement, nous allons retrouver des caractères corrélatifs de la réduction de la prolifération en examinant quelques incidents de l'évolution cellulaire, qui se produisent pendant la première phase.

III. — Les déviations évolutives au cours de la première phase.

L'évolution précédente, bien que s'étant amorcée de la même manière, peut se poursuivre différemment. Souvent, il s'agit d'une simple variante, et le résultat final est le même qu'au terme d'une évolution normale ; c'est le cas lorsque les chloroplastes se vésiculisent *réversiblement* au cours de leur régression. D'autres fois, il s'agit au contraire d'une véritable déviation évolutive ; la différenciation s'arrête et les cellules évoluent vers un état particulier, où elles demeurent jusqu'à leur mort, sans proliférer. Ce fait se produit lorsque l'ensemble du chondriome se vésiculise *irréversiblement*.

Nous examinerons successivement ces deux processus.

A. LA VÉSICULISATION RÉVERSIBLE DES CHLOROPLASTES. — Nous avons vu qu'au début de la différenciation les chondriosomes se vésiculisent, tandis que dans les chloroplastes les grains d'amidon se résorbent (Pl. XXV, fig. 1). Il arrive que cette vésiculation s'étende aux chloroplastes en voie de segmentation. Ils forment alors des vésicules plus grosses que les chondriosomes (Pl. XXV, fig. 2, autour du noyau), globuleuses ou piriformes, portant parfois un appendice filamenteux ou en forme de virgule. Lorsque la prolifération reste active, cette vésiculation générale n'est que passagère et n'entrave pas la différenciation.

En effet, les plastes vésiculisés peuvent se diviser (Pl. XXV, fig. 2), de sorte que leurs dimensions diminuent peu à peu (Pl. XXV, fig. 2 à 4). De plus, la région centrale, non colorable, des vésicules est éliminée à la fin de la première phase, suivant deux modalités. Parfois, la substance centrale se résorbe à l'intérieur de la partie colorable, qui se transforme alors en un chondrioconte allongé, d'abord épais, et s'amincissant par la suite (Pl. XXV, fig. 6). Dans d'autres cas, la substance colorable se condense en une ou plusieurs masses polaires à la surface de l'inclusion non colorable (Pl. XXV, fig. 5) ; elle se résout ainsi en mitochondries granuleuses, en bâtonnets ou en cupules qui se séparent de la substance chromophile. Celle-ci disparaît dans le cytoplasme.

A la fin de la première phase, tandis que s'édifient les zones génératrices, les chloroplastes se trouvent donc transformés en éléments semblables aux chondriosomes avec lesquels ils se confondent. Beaucoup de ces organites subissent alors l'allongement en longs chondriocontes, analogue à celui que nous avons décrit précédemment pour les chondriosomes (Pl. XXV, fig. 7).

B. LA VÉSICULISATION IRRÉVERSIBLE DES CHONDRIOSOMES ET DES PLASTES. — Il peut arriver que la dédifférenciation, normalement commencée, s'arrête plus ou moins tardivement et que l'ensemble du chondriome se vésiculise. Le fait peut se produire, par exemple, lorsque les plastes sont déjà très petits et les chondriosomes revenus de la vésiculisation réversible du début. On observe alors que les plastes se vésiculisent à leur tour (Pl. XXVI, fig. 1), processus bientôt suivi d'une nouvelle vésiculisation de la plupart des chondriosomes (Pl. XXVI, fig. 2 et 3). Cette fois, les éléments du chondriome se gonflent plus que précédemment (Pl. XXVI, fig. 3). Ils se présentent comme des volumes creux, limités par une fine paroi colorable, et subissent les déformations les plus variées (Pl. XXVI, fig. 4, 7). Leurs dimensions atteignent et parfois dépassent celles des noyaux.

Cette évolution déviée peut prendre naissance à n'importe quel moment de la première phase, et quelquefois à la fin de cette période. La vésiculisation affecte alors principalement les longs chondriocontes que nous avons signalés dans les cellules parvenues au terme de cette étape ; ces derniers forment dans ce cas des éléments dilatés irrégulièrement et de proportions démesurées (Pl. XXVI, fig. 5 et 6).

Ces figures, semblables après fixation par les mélanges de REGAUD et de MEVES, sont également visibles sur le vivant. En particulier, la vésiculisation des chloroplastes encore incomplètement dépigmentés est relativement facile à observer (Pl. XXIX, fig. 3 et 4).

IV. — Caractères cytologiques des tumeurs après la première phase de dédifférenciation.

La plupart des cellules chlorophylliennes primitives se sont donc transformées en un massif de cellules dépigmentées, où les plastes ne se distin-

guent plus des chondriosomes. Ces cellules possèdent encore une grande vacuole, et le cytoplasme n'est constitué que d'une fine pellicule pariétale. Le noyau quiescent ne s'est pas modifié sensiblement, il est toujours ellipsoïde et se trouve contre la membrane.

Ces caractères sont ceux des cellules méristématiques secondaires, et, en fait, des zones génératrices s'organisent sur le pourtour du massif tumoral, tandis que çà et là, parmi les cellules centrales, des épaissements lignifiés réticulés apparaissent dans les membranes. Ces cellules cessent bientôt de proliférer; elles demeurent telles quelles ou continuent à se lignifier. Fréquemment cette région se nécrose par la suite.

C'est donc à partir des cellules périphériques, plus ou moins agencées en zones génératrices, que la tumeur continue de s'accroître. Ces zones produisent vers le centre un tissu parenchymateux légèrement chlorophyllien, dont beaucoup de cellules se lignifient et se transforment en vaisseaux mal constitués. Vers la périphérie, c'est également un parenchyme qui se développe, mais dont les cellules restent plus actives et ne se lignifient généralement pas. Certaines d'entre elles se modifient peu, elles s'accroissent, mais n'acquièrent pas de plastes différenciés, et le chondriome reste constitué de mitochondries, de bâtonnets et de chondriocontes (Pl. XXVII, fig. 1). Dans d'autres, les plastes se différencient et redeviennent chlorophylliens (Pl. XXVII, fig. 2); beaucoup se remettent à élaborer des grains d'amidon (Pl. XXVII, fig. 3), mais ils demeurent peu pigmentés en général et conservent souvent des formes irrégulières, qui paraissent indiquer un état plus ou moins pathologique.

En outre, on retrouve dans beaucoup de tumeurs âgées des cellules à chondriosomes et plastes vésiculisés, distendus et déformés comme ceux décrits plus haut (Cf. § III, B) (Pl. XXVII, fig. 4 et 5).

Enfin, d'autres éléments issus des cellules génératrices conservent une activité prolifératrice plus grande et continuent à se différencier. Ils retiendront particulièrement notre attention, car ils s'engagent dans une seconde phase de différenciation que nous allons suivre maintenant.

V. — La seconde phase de différenciation : le retour au type méristématique primaire.

Les cellules qui continuent à se diviser activement se reconnaissent à leur taille de plus en plus petite, depuis les zones cambiales dont elles dérivent jusqu'à la surface de la tumeur. En outre, leur disposition en files radiales s'efface peu à peu dans les régions externes. Comme dans les exemples précédents, la seconde phase de différenciation concerne surtout le noyau, le cytoplasme et les vacuoles; toutefois, le chondriome se modifie encore considérablement dans le cas présent.

ÉVOLUTION DU NOYAU. — Elle commence, en réalité, dès les premières mitoses des cellules sous-épidermiques. Malgré les divisions répétées, les

dimensions du noyau ne diminuent que très légèrement ou restent constantes au cours de la première phase (Pl. XXIII, fig. 3 à 20, et Pl. XXX, fig. 19 et 20). De plus, il devient déjà plus chromatique, car les mailles du réseau s'épaississent sensiblement (Pl. XXX, fig. 19 et 20). Au cours de la seconde phase, le volume nucléaire diminue plus considérablement, surtout à la fin, lorsque les cellules méristématiques deviennent elles-mêmes très petites. En outre, le noyau s'enrichit en chromatine : les chromocentres grossissent et surtout ils paraissent plus nombreux ; les trabécules du réseau s'épaississent encore (Pl. XXX, fig. 21). Le nucléole ne se modifie pas sensiblement. Enfin, le noyau acquiert une forme plus ramassée, ellipsoïde ou subsphérique ; il quitte la paroi et se place au centre de la cellule.

ÉVOLUTION DU CYTOPLASME ET DES VACUOLES. — Dès les premiers recloisonnements des cellules issues des zones génératrices, le cytoplasme devient plus abondant, et de nombreuses trabécules traversent la vacuole (Pl. XXVIII, fig. 2). Ces trabécules grandissent et deviennent bientôt de véritables nappes de cytoplasme, qui segmentent la grande vacuole initiale en deux, puis en plusieurs vacuoles plus petites (Pl. XXVIII, fig. 3, de bas en haut). C'est à ce moment que le noyau se porte vers le centre de la cellule.

Beaucoup de cellules restent à cet état ; elles constituent l'essentiel du tissu périphérique. Elles peuvent même se redifférencier à certains endroits ; par exemple, à la surface des excroissances, elles s'agencent en une assise qui devient peu à peu régulière et remplace l'épiderme primitif de la tige, qui s'est exfolié au cours du développement de la tumeur (Pl. XXVIII, fig. 1). Cette assise sécrète une sorte de cuticule qui se colore comme le suber de la cicatrice. Souvent, elle forme des replis profonds à l'intérieur de la tumeur (fig. 65, p. 173).

Au sein de ce tissu périphérique, la dédifférenciation ne se poursuit que dans des petits groupes de cellules, qui présentent une recrudescence d'activité prolifératrice et s'agencent en méristèmes de tiges. Ces petits groupes peuvent être internes (fig. 66) ou superficiels. Ils ne sont formés d'abord que de quelques cellules dont le cytoplasme devient de plus en plus abondant, tandis que les vacuoles, en nombre croissant, diminuent de volume (Pl. XXVIII, fig. 4). Lorsque l'ébauche de l'assise épidermique du méristème se précise, les cloisonnements perpendiculaires à sa surface segmentent les cellules en éléments étroits et serrés (Pl. XXVIII, fig. 5). Les vacuoles commencent alors à manifester l'accroissement de concentration de leur contenu ; les fixateurs mitochondriaux y conservent des précipités de plus en plus importants et souvent hétérogènes (Pl. XXVIII, fig. 5). Certains sont de simples granules fortement colorés par l'hématoxyline, tandis que d'autres se composent d'une masse peu colorable et d'un précipité central colorable. Ils ressemblent, dans ce cas, à de petits noyaux, mais l'auréole claire qui les entoure ne permet pas de douter de leur localisation intravacuolaire (Pl. XXVIII, fig. 5). D'ailleurs, ces

corps ne prennent pas toujours le même aspect ; dans les cellules méristématiques des ébauches plus avancées, dont la croissance devient très lente, ils paraissent plus altérés et plus colorables (Pl. XXVIII, fig. 6) ; ils forment alors des figures identiques à celles des préparations mitochondriales des ébauches de racines adventives spontanées (Cf. p. 71). L'observation vitale permet, dans ce cas, de retrouver des corps intravacuolaires semblables à ceux que nous avons étudiés à propos des racines adventives (Cf. Pl. IV, fig. 8).

Ces éléments paraissent conformes à ceux que RIKER [223] a décrits comme représentant un caractère des tumeurs. Nous voyons qu'en réalité ils se rencontrent ailleurs et paraissent plutôt en relation avec l'arrêt de la prolifération et de la croissance des cellules.

Toutes les vacuoles ne renferment d'ailleurs pas de précipités, elles en sont même entièrement dépourvues dans certaines cellules du centre du méristème. Ces vacuoles apparemment vides prennent souvent les formes étirées et ramifiées caractéristiques des cellules méristématiques habituelles (Pl. XXVIII, fig. 7).

Enfin, dans les régions les plus superficielles, on rencontre de nombreuses vacuoles renfermant d'autres précipités plus ou moins colorables, qui constituent des agrégations de petits granules sphériques, des corps bacilliformes ou de petites tablettes cristallines, d'un brun jaunâtre passant au brun foncé et au noir (Pl. XXVIII, fig. 8). Ces corps fournissent les réactions des tanins, plus fortement que les précédents. Il est probable que ces précipités ont été parfois confondus avec des bactéries par les auteurs qui ont décrit des bacilles et des cocci intracellulaires dans les petites cellules périphériques des tumeurs. Nous verrons en effet que, chaque fois où nous avons décelé la bactérie dans des cellules, il s'agissait de cellules mortes et non de petites cellules à caractères méristématiques.

ÉVOLUTION DU CHONDRIOME AU COURS DE LA SECONDE PHASE. — Dans les cellules peu actives des zones génératrices, nous avons vu que de nombreux chondriosomes s'allongent en longs chondriocontes flexueux, forme exceptionnelle dans les cellules de Tomate. Nous retrouvons ces longs filaments au début de la seconde phase, fréquemment engagés dans les nombreuses trabécules cytoplasmiques (Pl. XXVIII, fig. 2). Mais bientôt les chondriocontes se segmentent et deviennent de plus en plus courts (Pl. XXVIII, fig. 3, puis 4). Dans les cellules étroites des ébauches méristématiques, tout le chondriome est dispersé en mitochondries granuleuses et en courts bâtonnets (Pl. XXVIII, fig. 5). Vers la fin de la différenciation, les chondriosomes continuent à se diviser activement (Pl. XXVIII, fig. 6), et les mitochondries granuleuses deviennent de plus en plus nombreuses, relativement aux bâtonnets (Pl. XXVIII, fig. 7 et 8).

En résumé, au cours de la seconde phase de différenciation, les cellules de type cambial se sont segmentées en petites cellules agencées en méristèmes fonctionnels de pousses feuillées. Ces méristèmes sont géné-

ralement peu actifs, et la lenteur de leur prolifération retentit surtout sur l'appareil vacuolaire, où se forment des précipités contenant, entre autres corps, des tanoïdes. Toutefois, les cellules de ces méristèmes renferment des vacuoles filamenteuses et un cytoplasme très abondant. Le noyau est relativement volumineux et le rapport nucléoplasmique élevé. Enfin le chondriome, très divisé, se compose surtout de mitochondries et de quelques bâtonnets. Ces derniers caractères sont ceux des cellules méristématiques primaires typiques.

Au point de vue histogénétique, le développement des pousses feuillées, qui est lent mais se produit néanmoins, montre bien l'extension des potentialités des éléments issus d'une même catégorie de cellules adultes de la tige : les cellules sous-épidermiques.

Le développement des tumeurs corticales sur la tige de Tomate présente donc, parmi des évolutions cytologiques relativement variées, des processus de dédifférenciation très profonds, et qui ne diffèrent pas essentiellement de ceux que nous avons décrits dans les exemples précédents.

CHAPITRE IV

ÉTUDE CYTOLOGIQUE DES PROCESSUS DE DÉDIFFÉRENCIATION DANS LES ÉBAUCHES RADICULAIRES INDUITES PAR LES TUMEURS

Nous avons dit que de nombreuses ébauches de racines adventives se forment au voisinage des tumeurs, et même sous leurs propres tissus, par dédifférenciation de cellules des mêmes catégories que dans le cas des racines étudiées au début de ce mémoire. Les cellules du péricycle et du

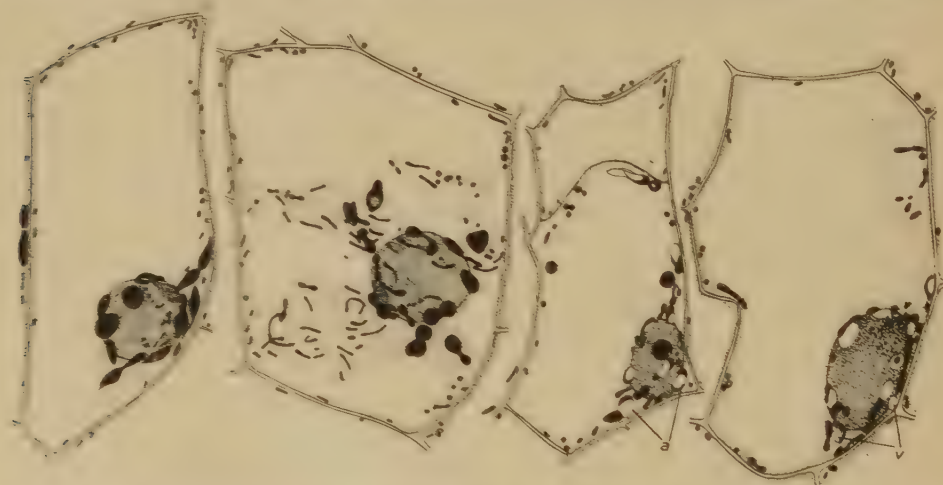


FIG. 71 et 72. — Quatre stades de la dédifférenciation des cellules péricycliques au cours de la formation de racines au voisinage des tumeurs :

FIG. 71 et 72. — Segmentation des chloroplastes.

FIG. 73 et 74. — Séparation de la substance plastidiale, qui retourne à l'état de chondriosomes, et des grains d'amidon (a), qui sont digérés et forment avant de disparaître de petites vacuoles transitoires (o). ($\times 1\ 200$.)

parenchyme libérien le plus externe subissent les régressions les plus profondes. Nous ne décrirons pas ces transformations avec les mêmes détails que dans la première partie de nos recherches, mais seulement par comparaison. L'évolution est en gros la même dans les deux cas. En particulier, au cours de la première phase, la régression des chloroplastes s'opère par segmentations successives (fig. 71 et 72). Mais, très souvent, les chloroplastes élaborent des grains d'amidon au début de la dédifférenciation ; ils les digèrent ensuite et les abandonnent sous forme d'une petite vacuole

transitoire, fournissant alors des figures de régressions (fig. 73 et 74), analogues à celles représentées sur la planche III.

La seconde phase est identique à celle qui concerne les ébauches spontanées. En particulier, le méristème fonctionne un moment, puis son activité prolifératrice se ralentit et se suspend. Il se produit alors de nombreux précipités intravacuolaires, renfermant des tanoïdes, entre autres substances, et présentant les mêmes aspects que ceux précédemment décrits (Cf. p. 71 et suiv.). Une fois de plus, nous pouvons les mettre en relation avec l'arrêt de l'activité prolifératrice et non avec une action spécifique des processus tumoraux.

CHAPITRE V

LA PÉNÉTRATION ET LA LOCALISATION DE LA BACTÉRIE

Au cours de l'étude cytologique, nous avons souvent parlé de chondriosomes bacilliformes, ou en courts bâtonnets. Les tissus étudiés étant produits par l'action de bactéries, il nous faut prouver maintenant que des chondriosomes n'ont pas été confondus avec des bactéries. Nous étudierons donc leur localisation dans les tumeurs.

I. — Aperçu historique.

Les premiers auteurs qui ont tenté de retrouver la Bactérie dans les tumeurs ont constaté qu'il était très difficile de la déceler dans les tissus.

SMITH [249] (1911) a prétendu l'avoir trouvée dans les petites cellules qui prolifèrent activement. Cette localisation n'a pas été confirmée, bien que PINOY [211] (1925) ait signalé des corps de formes bactériennes dans des cellules périphériques des tumeurs, dont il n'a pas précisé les caractères. Les recherches de MAGROU [178, 179] (1926-1927) montrent nettement des bactéries dans certaines grandes cellules de la périphérie des tumeurs, mais l'auteur ne dit pas si ces cellules sont vivantes ou mortes. NÉMEC [200] (1928) signale aussi des bactéries intracellulaires.

A côté de ces résultats, qui indiqueraient une localisation *intracellulaire*, beaucoup d'auteurs ont décelé la Bactérie dans les espaces *intercellulaires*.

ROBINSON et WALKDEN [226] (1923) l'ont reconnue sur la surface de la tumeur et dans les espaces intercellulaires des régions périphériques. RIKER [222] (1923) confirme ces résultats ; il ajoute que le microorganisme se trouve parfois aussi dans les vaisseaux et peut être observé sur des coupes à la main non colorées et sur des coupes histologiques colorées à la fuchsine très diluée. Il explique la difficulté de le mettre en évidence par le fait que les parois cellulaires voisines du bacille se teignent par les divers colorants utilisés, et conclut que la Bactérie est présente en bien plus grand nombre qu'on ne l'avait supposé. Plus récemment, HILL et ses collaborateurs [131, 132] (1928-1930), puis IVANOFF et RIKER [138] (1930) ont confirmé la localisation intercellulaire.

En résumé, s'il paraît certain que la Bactérie se propage dans les espaces intercellulaires des tumeurs, les microphotographies de MAGROU la montrant à l'intérieur de certaines cellules sont également convaincantes. Il nous importe donc de caractériser ces cellules et de déterminer, autant que possible, l'extension de la Bactérie dans les tumeurs assez spéciales que nous avons étudiées.

II. — Techniques.

Fixation. — La mise en évidence des bactéries à l'intérieur des tumeurs ayant la réputation d'être malaisée, nous avons employé simultanément de nombreuses techniques, afin d'effectuer suffisamment d'observations convergentes. En plus des fixateurs habituels (NAVACHINE, HELLY, REGAUD, MEVES), nous avons employé la technique de PARAT (Cf. p. 42) et les mélanges suivants de NĚMEC et de BRASIL.

Liquides LV de NĚMEC. — 1° Acide chromique à 1 p. 100 : 100 volumes; formol neutre : 8 vol. ; durée de fixation : 24 heures ; 2° acide chromique à 1 p. 100 : 50 vol. ; bichromate K à 1 p. 100 : 50 vol. ; formol neutre : 8 vol. ; durée de fixation : 24 à 48 heures. Ces liquides doivent être renouvelés au moins une fois.

Mélange de BRASIL. — Acide picrique : 1 gramme; alcool à 80° : 150 centimètres cubes (solution A) ; formol neutre à 40 p. 100 (solution B). Mélanger au moment de l'emploi : solution A : 10 vol. ; solution B : 4 vol. ; acide acétique cristallisable : 1 vol. Durée de fixation : 24 heures.

Colorations. — Nous avons d'abord effectué la coloration différentielle employée par MILOVIDOV [184] à l'étude des bactéries symbiotiques. Elle consiste à colorer en premier lieu par la fuchsine d'ALTMANN (Cf. p. 45), puis, après différenciation à l'aurantia, à pratiquer les opérations suivantes :

1° Traiter deux à trois minutes par : acide phosphomolybdique : 1 gramme ; soude caustique en solution normale : 10 centimètres cubes ; eau distillée : 90 centimètres cubes ; 2° laver à l'eau ; 3° colorer, dix à quinze minutes, par le *bleu de VOLKONSKY* : violet de méthylène : 0gr,4 ; azur II : 0gr,1 ; carbonate neutre de potassium : 0gr,1 ; eau distillée : 50 centimètres cubes ; glycérine : 50 centimètres cubes ; 4° laver à l'eau ; 5° différencier au tanin orange de UNNA, à l'immersion ; 6° laver à l'eau ; 7° monter au baume du Canada sans xylol.

Les chondriosomes et les plastes sont colorés en rouge vif, les bactéries en bleu ou en vert.

Nous avons également employé la coloration exclusive au bleu de VOLKONSKY, pendant quinze minutes et pendant vingt-quatre heures, suivie de la différenciation par le tanin orange. Cette méthode nous a donné les meilleurs résultats : la Bactérie se colorant en vert bleu, les autres éléments en violet (Pl. XXIX, fig. 5 et 6).

D'autre part, nous avons pu colorer la Bactérie en rouge carminé, sur un fond rouge orangé, par la *pyronine* employée comme suit :

1° Pyronine : 0gr,5 ; vert de méthyle : 0gr,15 ; alcool à 96° : 5 centimètres cubes ; glycérine : 20 centimètres cubes ; eau phéniquée à 2 p. 100 : 100 centimètres cubes. Durée de coloration : vingt-quatre heures, à froid ;

2° Pyronine : 4 grammes ; acide phénique cristallisé : 5 grammes (broyer dans un mortier avec 10 centimètres cubes d'alcool à 90°) ; rincer avec 100 centimètres cubes d'eau distillée et filtrer après vingt-quatre heures. Coloration : quinze minutes à deux heures, à 60°.

A la surface de la tumeur, la Bactérie se colore encore par l'héματοxyline et même par la réaction de FEULGEN.

Ces diverses techniques nous ont permis de nous faire une idée de la pénétration de la Bactérie au début et à la fin du développement des tumeurs. Nous en résumerons brièvement les résultats.

III. — La pénétration de la Bactérie.

Lorsque l'infestation est produite par piqure, un grand nombre de bactéries sont inoculées à coup sûr dans les tissus de l'hôte. Au cours de nos recherches nous avons appliqué simplement les microorganismes sur la surface blessée ; leur pénétration est alors moins évidente. Elle ne peut se produire que dans les premières vingt-quatre heures, car toutes les cellules lésées meurent, et il se forme immédiatement au-dessous un périderme dont les cellules externes se subérifient et s'opposent au passage des bactéries. Nous avons donc tenté de retrouver les bactéries qui ont pu pénétrer avant la fermeture de la plaie, en fixant quelques jours après la contamination, et aussi au début du développement des tumeurs.

Ces préparations montrent facilement un très grand nombre de bactéries à la surface de la cicatrice, parmi les cellules mortes en voie d'exfoliation ; mais nous n'avons pas réussi à en déceler dans les tissus vivants du périderme, où d'ailleurs on ne trouve pas de méats hypertrophiés et où ni méats ni cellules ne présentent de colorations particulières. Il en est de même dans les jeunes tumeurs.

Si les bactéries ont pénétré, c'est donc en nombre très limité, et leur développement est loin d'être actif dans les tissus de l'hôte au début de la formation des tumeurs. Il est difficile d'admettre, en effet, qu'elles deviennent soudainement incolores après leur pénétration, car nous les avons très bien colorées dans les tumeurs âgées, où nous les décrirons maintenant.

IV. — La Bactérie dans les tumeurs âgées.

La croissance des tumeurs provoque l'étirement des tissus superficiels et des ruptures s'y produisent, tandis que beaucoup de cellules se nécrosent. Ces dernières se laissent envahir par les bactéries, qui demeurent abondantes à la surface des tissus, mais ne se trouvent jamais dans les cellules vivantes. Il est généralement difficile de bien les distinguer, car elles sont incluses dans une zooglée colorable et sont mêlées aux débris des cellules mortes, contenant de nombreuses inclusions, dont des tannins et divers cristaux. Toutefois, on rencontre çà et là des cavités cellulaires où la zooglée laisse voir nettement les nombreux bacilles qu'elle renferme (Pl. XXIX, fig. 5 et 6).

La contamination superficielle peut alors gagner, dans les assises plus profondes, les grandes cellules dont la prolifération est très faible. On

observe, dans ce cas, des méats et surtout des cellules mortes, dont la cavité a été envahie par la zoogée microbienne. Ces grandes cellules présentent tout à fait l'aspect des cellules périphériques décrites et photographiées par MAGROU. Les préparations au bleu de VOLKONSKY nous en ont donné des figures particulièrement nettes (Pl. XXIV, fig. 5 et 6 et fig. 75).

Enfin, les tissus du centre des tumeurs se nécrosent très souvent et l'infestation peut les atteindre. À côté de tissus déformés, remplis de produits grossièrement coagulés et colorés, on rencontre alors des plages parsemées de corps bactériens. Nous avons également trouvé des bactéries dans les vaisseaux plus ou moins aberrants de ces tumeurs.

En résumé, dans les jeunes tumeurs corticales, les petites cellules à parois fines ne laissent pas de méats entre elles, et les bactéries paraissent très rares, si elles existent. Dans les tumeurs plus âgées, la Bactérie peut se trouver soit dans des espaces intercellulaires, soit dans des cellules mortes, mais nous ne l'avons jamais décelée dans des cellules vivantes, quelles qu'aient été les méthodes employées.

Les bactéries qui se trouvent en grand nombre dans les tumeurs âgées ne paraissent pas avoir été la cause du développement de ces tumeurs, mais semblent plutôt résulter d'une contamination *secondaire*.

Ce fait conduit à se demander si la présence de la Bactérie est indispensable au développement des tumeurs, ou si elle agit plutôt à distance par voie humorale. Rappelons à ce propos que nous avons observé l'extension d'un pouvoir rhizogène au voisinage des tumeurs. Nous nous contentons de signaler ces problèmes, car ils nécessiteraient des recherches que nous n'avons pas entreprises.

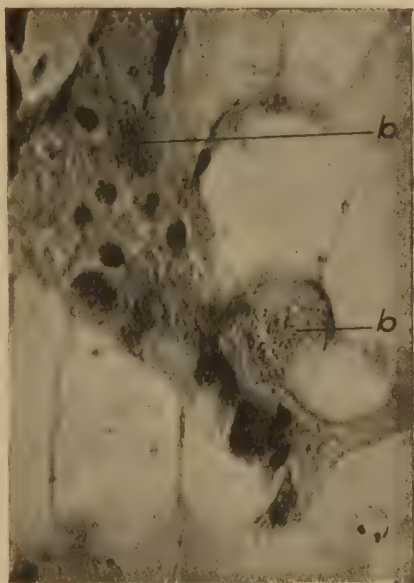


FIG. 75. — Microphotographie d'une préparation colorée au bleu de Volkonsky, montrant la zoogée bactérienne (b) envahissant des cellules mortes. ($\times 900$.)

CHAPITRE VI

LES TUMEURS CORTICALES DE TOMATE ET LA QUESTION DES ANOMALIES NUCLÉAIRES PRODUITES PAR P. TUMEFACIENS

I. — Aperçu historique.

La question des anomalies nucléaires dans le développement du *Crown-gall* a fait l'objet de nombreuses discussions, dont le but le plus fréquent était de retrouver dans les tumeurs végétales les anomalies observées dans les cancers animaux. Ainsi serait justifiée l'expression de « *cancers végétaux* » appliquée à ces tumeurs.

Ces anomalies concernent soit le nombre chromosomique (polyploïdie), soit des altérations diverses de la mitose : formes des chromosomes, retard ou avances dans leurs mouvements lors de la caryocinèse, nombre indéterminé à chaque pôle du fuseau, fuseaux multipolaires, etc.

La présence de cellules polyploïdes dans les *Crown-galls* a été bien établie par WINGE [289] (1927), KOSTOFF [49] (1934), KOSTOFF et KENDALL [152] (1933), LEVINE [165] (1931).

WINGE admet que la Bactérie agit en provoquant la formation de cellules polyploïdes et que celles-ci sont toujours à l'origine des tumeurs. Lorsqu'on y trouve des noyaux diploïdes, ils résultent de mitoses réductrices rappelant la mitose hétérotypique de la méiose. Cette théorie n'est pas confirmée par KOSTOFF, qui pense que la polyploïdie est due à des facteurs nécrotiques et ne se produit que dans les tumeurs âgées. Par contre, comme E. F. SMITH, KOSTOFF voit de grandes analogies entre le *Crown-gall* et le cancer humain.

Dans une étude très étendue, LEVINE [165] (1931) montre que les petites cellules qui prolifèrent sont diploïdes, tandis que les cellules géantes sont polyploïdes. Il conclut que les tissus du *Crown-gall* sont d'abord diploïdes et que les cellules polyploïdes se produisent plus tard, par défaut de formation des membranes et fusion des noyaux après les mitoses. LEVINE nie l'existence d'anomalies mitotiques, au moins dans les régions où la prolifération est active. En outre, les fuseaux multipolaires manquent dans le *Crown-gall*. Ce type de tumeurs serait donc très différent d'un cancer, au contraire de ce que l'auteur supposait dans de précédents mémoires (LEVIN et LEVINE [162], 1930.)

II. — Observations personnelles.

Nous n'avons pas abordé cette question avec l'ampleur qu'elle exigerait, car elle était en marge de nos recherches sur la dédifférenciation. Toutefois, il était indispensable de savoir si les cellules qui se dédifférencient deviennent polyploïdes au cours de leur régression. Nous avons donc fait des numérations chromosomiques, d'une part dans les premières caryocinèses des cellules sous-épidermiques et, d'autre part, dans les petites cellules des tumeurs formées, qui poursuivent leur dédifférenciation. Par comparaison, nous avons compté les chromosomes dans les mitoses de racines obtenues par germination de graines du même lot que celles d'où provenaient les plantes traitées. Sur une vingtaine de numérations effectuées dans les tumeurs parmi les meilleures figures, nous avons trouvé des nombres compris entre 19 et 22 (ce dernier étant le plus fréquent). Dans les racines, pour un même nombre d'essais, nous avons trouvé entre 19 et 25 chromosomes (nombre le plus fréquent : 23). Ces résultats montrent que les cellules tumorales douées d'activité prolifératrice possèdent bien le même nombre de chromosomes que les cellules méristématiques des germinations.

Les grandes cellules des tumeurs âgées se divisent peu, et il faudrait examiner un très grand nombre de préparations pour trouver beaucoup de figures de caryocinèse convenables. Nous ne l'avons pas fait, car ces cellules n'avaient pas d'intérêt pour la dédifférenciation ; toutefois, les quelques numérations que nous avons faites ont fourni des nombres voisins de 45, donc du nombre double des précédents.

Tous les auteurs s'accordent d'ailleurs sur l'existence de cellules tétra- et polyploïdes ; leur origine et leur signification seules sont sujettes à discussion. A propos de cette interprétation, nos recherches confirment les idées de LEVINÉ et contredisent la théorie de WINGE. Elles montrent, en effet, que les premières mitoses d'où naissent les tumeurs sont apparemment normales et ne conduisent pas à la formation de cellules tétra- ni polyploïdes. La polyploidie n'est donc pas la modification initiale déterminant le déclenchement des processus tumoraux et, même dans les tumeurs âgées, les cellules qui prolifèrent sont diploïdes.

En résumé, les caractères caryologiques des tumeurs corticales que nous avons étudiées sont très différents de ceux des tissus cancéreux de l'Homme et des animaux. D'autre part, si la croissance de ces tumeurs est illimitée en principe, en fait elle se ralentit considérablement au bout d'un certain temps, même dans les cellules les plus actives, qui se sont organisées en méristèmes primaires. Ces tumeurs ne sauraient donc être considérées comme des tumeurs malignes. Enfin les caractères histologiques de ces proliférations, en majeure partie anarchiques ou mal organisées, se rapprochent beaucoup plus de ceux d'une culture de tissus végé-

taux dont la croissance serait ralentie que de ceux des tissus cancéreux des animaux. Nous sommes donc amené à penser, comme LEVINE, que les proliférations provoquées par *P. tumefaciens* ne sont pas des *cancers végétaux*. Nous avons signalé, d'autre part, que beaucoup de caractères, considérés comme propres aux tumeurs (polyplôidie, précipités intravacuolaires), se retrouvent dans des tissus normaux de la plante.

Toutefois, au point de vue de la dédifférenciation, cette dernière partie de nos recherches montre une diversité que nous n'avions pas rencontrée dans les exemples précédents. En effet, alors que précédemment les divers aspects cytologiques des cellules issues d'un même type primitif se succédaient dans le temps pour former une seule série évolutive, dans le cas présent beaucoup de transformations ne s'intercalent pas dans une série linéaire, mais constituent des dérivations qui s'écartent du phylum principal et n'y reviennent pas. La dédifférenciation s'arrête alors, à la suite de modifications structurales irréversibles.

Nos recherches ne permettent pas de préciser les causes de ces différences, mais nous rapprocherons ces causes, en terminant, du caractère différent des facteurs qui entraînent la dédifférenciation. Alors que, dans les exemples précédents, ces facteurs (humidité, isolement d'organes ou de tissus, hétéro-auxine) agissaient d'une manière continue, parfois en s'intensifiant dans le temps, ici l'excitation première : l'inoculation des bactéries, s'affaiblit au bout de peu de temps. Il est possible que cette excitation engendre des facteurs qui agissent après elle, mais ces derniers sont peut-être assez divers ou irréguliers pour expliquer le caractère d'incertitude qui se dégage du développement des tumeurs.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Arrivé au terme de l'exposé descriptif de nos expériences et de nos observations, il nous reste maintenant à les comparer aux travaux antérieurs et à dégager les idées générales qui en découlent. Nous examinerons d'abord les résultats de nos recherches histologiques, puis de nos recherches cytologiques, et nous terminerons par des considérations d'ordre physiologique.

CHAPITRE PREMIER

ÉTUDES HISTOLOGIQUES

Ces études ont eu pour but essentiel de reconnaître l'origine des cellules qui se différencient dans chacun de nos exemples et de montrer à quel type de méristème conduisent les processus de différenciation. Cependant nos recherches nous ont amené à des observations sur l'édification, la structure et le fonctionnement des méristèmes. Nous envisageons donc successivement ces diverses questions.

I. — L'origine des cellules différenciées.

Nos divers exemples ont montré que des cellules appartenant à des types de spécialisation divers peuvent se différencier. Nous avons constaté principalement la régression de cellules de nombreux parenchymes : parenchyme vasculaire de la racine de Chicorée à café, parenchymes libériens de la tige de Tomate, des racines de Carotte et de Chicorée à café, parenchyme médullaire externe (péricycle et cellules sous-jacentes) de la tige de Tomate, parenchyme cortical de la tige de Tomate (assise sous-épidermique, endoderme), enfin mésophylle (parenchyme lacuneux) de la feuille de *Brimeura amethystina*. Ces divers tissus présentent des caractères variés, malgré leur dénomination commune de parenchymes. Certains sont chlorophylliens (*Brimeura*, Tomate); d'autres ont des plastes non pigmentés et ne forment pas d'amidon (Chicorée à café); d'autres enfin renferment des chromoplastes (Carotte) et sont constitués de cel-

lules relativement plus spécialisées, comme d'ailleurs celles qui constituent l'endoderme ou le péricycle des tiges de Tomate. L'assise sous-épidermique de cette tige présente également des caractères très particuliers.

Nous avons étudié, d'autre part, un cas de dédifférenciation d'un tissu protecteur : l'épiderme des feuilles de *Brimeura amethystina*, et d'un tissu de soutien : le collenchyme de la tige de Tomate, lors du développement des tumeurs corticales.

Enfin nous avons constaté, en suivant la formation des racines adventives sur les tiges de Tomate, que les cellules les moins évoluées du tissu libérien (cellules-compagnes et jeunes tubes criblés) peuvent également se dédifférencier. Il semble donc bien que toutes les cellules spécialisées des Angiospermes sont susceptibles de se dédifférencier si elles ne sont pas engagées dans une voie de spécialisation qui entraîne leur dégénérescence et leur mort rapide. Ainsi, lorsqu'elles sont trop évoluées, les cellules des vaisseaux, des tubes criblés ou du suber sont incapables de revenir à l'état méristématique.

Nous avons observé l'*édification de bourgeons* à partir de cellules épidermiques (*Brimeura amethystina*) et de cellules de parenchymes divers : vasculaire, libérien (Chicorée à café) et cortical (tumeurs de Tomate). D'autre part, nous avons suivi l'*édification de racines* à partir de cellules péricycliques (Tomate), de cellules de parenchyme lacuneux de feuilles (mésophylle de *Brimeura*) ou de parenchyme libérien (Carotte). Ces faits complètent les nombreux travaux signalés dans l'historique et montrent que bourgeons ou racines peuvent naître de tissus très divers de l'écorce ou du cylindre central des tiges et des racines, ainsi que de l'épiderme (bourgeons) et du mésophylle (racines) des feuilles. Le déterminisme de la formation de bourgeons ou de racines ne doit donc pas être recherché dans la spécialisation première des cellules qui leur donnent naissance.

II. — L'édification et la structure comparée des méristèmes de tiges et des méristèmes de racines.

On a rarement l'occasion d'observer l'édification de méristèmes primaires. Lorsqu'on étudie des plantules, même très jeunes, les méristèmes apicaux sont déjà complètement organisés. Au contraire, l'étude des processus de dédifférenciation nous a permis d'assister à cette édification. Les cellules en voie de régression sont d'abord disposées sans ordre et forment des massifs homogènes. Leur agencement en méristèmes de racines ou de tiges s'établit *progressivement*, au fur et à mesure de la prolifération.

La transformation du massif inorganisé en méristème organisé se produit par l'orientation des mitoses et par des elongations cellulaires, également orientées. Ces processus entraînent l'apparition très précoce d'une *polarité* dans le massif primitif. Dès que cette polarité se manifeste, il est possible de reconnaître le type de méristème que donnera l'ébauche.

En effet, dans le cas d'une *ébauche de bourgeon*, la polarité se révèle par l'apparition, sur un côté du massif encore homogène, de cloisonnements perpendiculaires à sa surface. A la suite de ces cloisonnements, il s'édifie une *assise régulière* qui sera l'origine de l'*épiderme* du futur organe. Sous cette assise se constitue un îlot de petites cellules qui paraissent disposées sans ordre et passent progressivement aux cellules plus grandes de la base de l'ébauche (fig. 58, p. 153). Ultérieurement, les cellules dérivées de cet îlot central s'allongeront perpendiculairement à la surface du sommet méristématique, mais *l'élongation n'intervient ici que tardivement et relativement loin du méristème*.

Au contraire, dans le cas d'une *ébauche de racine*, les processus d'élongation sont très précoces. Ils se produisent dans une région restreinte du massif de petites cellules, qui sera la *région basale* de l'ébauche. Là, les cloisonnements qui se poursuivent sont perpendiculaires au sens de l'élongation ; il se forme donc des files cellulaires parallèles (fig. 48, B, p. 125). Dans la région opposée, qui sera la *région apicale*, les cloisonnements ne s'accompagnent pas d'élongation et sont perpendiculaires à la surface du massif ; ils déterminent la formation d'assises hémisphériques concentriques (fig. 48, A), dont les bords se raccordent bientôt avec les files cellulaires de la base (fig. 48, b, c).

Les méristèmes radiculaires se distinguent donc nettement des méristèmes de tige :

1° Par la disposition régulière en files longitudinales des cellules de la base des ébauches, qui subissent une élongation très précoce, ce qui n'a pas lieu dans les bourgeons, où les entre-nœuds restent longtemps très courts ;

2° Par la multiplicité des assises, plus ou moins régulières, qui entourent au sommet de l'ébauche le massif des initiales radiculaires et sont précédées des cellules de la coiffe, disposées sans ordre. Dans les méristèmes de tiges, il n'existe en général qu'une seule assise frontale, renfermant les initiales épidermiques, régulière et bien distincte du massif désordonné sous-jacent.

Remarquons toutefois que, dans la région apicale des ébauches radiculaires, l'organisation en assises ou en files cellulaires reste moins nette que sur les bords latéraux ou vers la base. Dans cette région, où se trouvent les initiales méristématiques, il serait donc exagéré de vouloir délimiter des initiales respectives de la coiffe et de l'assise pilifère, de l'écorce, du cylindre central, comme de nombreux auteurs l'ont fait dans les méristèmes radiculaires normaux. Ainsi, les trois régions du sommet d'une racine, distinguées par HANSTEIN [126], puis par REINKE [221] sous les noms de *dermatogène* (assise pilifère et coiffe), *périblème* (écorce) et *plérome* (cylindre central), bien distinctes vers la base, se confondent généralement vers le sommet des ébauches en un méristème général, plus ou moins réduit, où leurs limites s'effacent. Ces faits ont été signalés déjà par KNY [146], par KNIPE [145], par SCHWENDENER [240], et par BOUYGUES [24]. Dans cette région, les mitoses peuvent avoir toutes les orienta-

tions ; ce n'est qu'au delà, parmi les cellules dérivées de ce petit massif, que l'orientation des mitoses devient régulière.

De cette difficulté de délimiter les initiales résulte la multiplicité des types établis par DE JANCZEWSKI [104], qui distingue cinq types de méristèmes radiculaires ; par TREUB [270], qui en décrit trois pour les Monocotylédones, et par ERIKSSON [77], qui répartit les méristèmes radiculaires des Dicotylédones en quatre types. CH. FLAHAUT [86] montre heureusement que la plupart de ces distinctions sont peu importantes, et ne retient que l'origine de la coiffe, qui oppose les Monocotylédones, où elle est indépendante de l'assise pilifère, aux Dicotylédones, où elle a les mêmes initiales que cette assise.

Chez les tiges, où la disposition des cellules paraît encore plus incertaine que dans les racines, les résultats de DOULIOT [66] et de SCHOUTE [238], qui prétendent suivre les limites entre le plérôme et le périblème jusqu'au sommet et y trouver soit 2 (Monocotylédones), soit 3 (Dicotylédones) initiales ou « tétrades d'initiales » (DOULIOT, VAN TIEGHEM), paraissent bien trop catégoriques dans la plupart des cas.

Ces divers auteurs ont donné de nombreuses figures ; les limites des tissus méristématiques y sont souvent très nettes, mais parfois aussi elles paraissent assez arbitraires, bien qu'elles soient accusées par des traits de force. En outre, comme le fait remarquer SCHWENDENER [240], l'existence de régions apicales plus ou moins nettement délimitées ne prouve pas qu'on ait affaire à des « histogènes » séparés, dont chaque cellule aurait une descendance bien définie.

En fait, qu'il s'agisse d'une tige ou d'une racine, lorsqu'on suit la construction des points végétatifs à partir de massifs cellulaires inorganisés, on constate que la structure caractéristique de ces méristèmes néoformés ne se dessine que peu à peu au cours de la prolifération et ne résulte certainement pas du fonctionnement de quelques initiales privilégiées. En d'autres termes, on n'observe pas que, dans ce massif inorganisé, quelques cellules seulement subissent des divisions orientées et que seules les cellules qui en dérivent édifient le méristème. Au contraire, on assiste à l'orientation *progressive* des mitoses d'un grand nombre de cellules, de répartition diffuse et discontinue au début. Les descendantes de ces cellules forment des plages organisées qui se raccordent peu à peu et font apparaître la structure méristématique régulière. Toutefois, il reste toujours dans la région apicale un petit massif de cellules qui paraissent disposées sans ordre et se divisent dans toutes les directions : ce petit massif n'est autre que l'ensemble des *initiales méristématiques*.

III. — Remarques sur le fonctionnement des méristèmes apicaux.

De ces observations, nous déduisons que le pouvoir d'organogenèse des méristèmes primaires n'apparaît pas dans les initiales, mais dans les cellules qui en dérivent. Nous pouvons rapprocher ces résultats de ceux de JOST [142], de GAUTHERET [89], puis de ROBBINS, BARTLEY et WHITE [224], sur la régénération des méristèmes radiculaires. Ces auteurs ont montré que la région des initiales ne comporte elle-même aucun potentiel

de différenciation ; la régénération de la région apicale est induite par les tissus différenciés préexistants, qui agissent sur les parties les plus jeunes et déterminent leur remaniement. GAUTHERET fait remarquer que, dans ces conditions, la régénération du méristème est un véritable processus de dédifférenciation.

Nos observations montrent que la différenciation progressive des cellules est fonction de leur situation dans l'ébauche. Tout se passe comme s'il s'établissait entre les diverses régions des actions rappelant les corrélations organiques entre les organes différenciés. La différenciation qu'elles déterminent se manifeste d'abord par l'orientation des mitoses, et il en résulte l'apparition d'une *polarité* dans le massif primitivement homogène. Dès que les premières cellules se sont différenciées à la base de l'ébauche, nous sommes ramené à ces cas voisins de ceux des méristèmes décapités étudiés par JOST et par GAUTHERET, et les cellules différenciées seraient susceptibles d'influencer l'évolution des cellules encore indifférentes.

L'organogenèse résultant du fonctionnement de ces méristèmes néoformés ne paraît donc pas due à la prolifération de cellules prédéterminées, mais elle semble plutôt se produire aux dépens de cellules indifférentes qui s'engagent passivement dans la voie évolutive où elles sont induites sous l'effet d'actions intercellulaires. Ce mode de fonctionnement rappelle donc le *développement épigénétique* des organismes animaux, où les cellules se différencient peu à peu en fonction de leur situation présente et peuvent même remplir successivement plusieurs fonctions transitoires ; il s'oppose à l'idée de *préformation*, implicite dans les mémoires des auteurs qui attribuent la croissance terminale des tiges ou des racines au fonctionnement rigoureux et géométrique d'initiales groupées en *histogènes* indépendants (HANSTEIN, DE JANCZEWSKI, DOULIOT, VAN TIEGHEM, etc.).

La question se pose alors de connaître la nature des facteurs qui provoquent l'organogenèse. Ils rappellent trop, d'une part, les corrélations humorales bien mises en évidence en embryologie animale et, d'autre part, le pouvoir organogène des hétéro-auxines employées en physiologie végétale pour ne pas faire penser que cette organogenèse pourrait être due à la production d'hormones. Mais nos travaux ne nous permettent pas d'étayer de telles hypothèses, et nous ne les signalons que parce qu'il nous semble intéressant de provoquer des recherches physiologiques sur cette question.

Ces recherches permettraient peut-être d'expliquer, en outre, pourquoi l'organogenèse n'atteint pas les initiales et, s'il s'agit réellement d'hormones organisatrices, la relation entre la polarité et la circulation de ces substances serait à rechercher et à comparer avec la circulation des auxines étudiée particulièrement par WENT [284] et VAN DER WEIJ [282].

Enfin ces études apporteraient peut-être des précisions sur une question d'importance primordiale, que nous ne pouvons que poser en terminant ce chapitre : quel est le déterminisme de la transformation de l'ébauche en méristème de racine ou en méristème de tige ?

CHAPITRE II

ÉTUDES CYTOLOGIQUES

L'étude cytologique de la dédifférenciation a constitué l'essentiel de nos recherches. Nous nous sommes attaché à saisir les transformations structurales qui se produisent depuis le déclenchement des processus régressifs jusqu'au retour des cellules adultes à l'état méristématique primaire. Cette évolution s'effectue progressivement au fur et à mesure de la prolifération des cellules adultes. Les premières régressions morphologiques concernent toujours les structures spécialisées du chondriome, et ce n'est que plus tard que le noyau, le cytoplasme et les vacuoles se modifient à leur tour. Cette succession de faits permet de distinguer deux phases essentielles, qui peuvent être précédées d'une phase préliminaire.

Mais, avant d'esquisser les grandes lignes de ces transformations, il est nécessaire de bien mettre en évidence les différences de structure entre les cellules des méristèmes primaires et les cellules des méristèmes secondaires, qui, nous le verrons, représentent les étapes de la dédifférenciation.

I. — Caractères cytologiques des méristèmes.

Au cours de l'exposé de nos résultats, nous avons eu maintes fois à rappeler les caractères cytologiques des méristèmes primaires et des méristèmes secondaires, en insistant sur leurs différences d'aspects. Très peu d'auteurs se sont attachés à dégager ces différences, et seul BAILEY [5] a décrit avec quelques détails la structure des cellules cambiales. Nous comparerons brièvement les caractères cytologiques de ces deux sortes de méristèmes.

CARACTÈRES CYTOLOGIQUES DES MÉRISTÈMES PRIMAIRES. — Les méristèmes primaires sont constitués de petites cellules isodiamétriques, polyédriques, contenant un noyau relativement volumineux, riche en chromatine, et qui occupe le centre de ces cellules. Le cytoplasme, dense et abondant, renferme des vacuoles nombreuses, mais très petites, globuleuses ou étirées en filaments irréguliers. Ces vacuoles ont un contenu colloïdal concentré, semi-fluide, de viscosité voisine de celle du cytoplasme. Les fixateurs coagulent souvent ce contenu en le contractant (GUILLIERMOND), de sorte que ces éléments vacuolaires apparaissent entourés d'une

auréole claire et se distinguent toujours des chondriosomes, auxquels ils ressemblent parfois, surtout lorsqu'ils sont colorés par l'hématoxyline.

Les colorants vitaux sont adsorbés intensément par les colloïdes des vacuoles méristématiques, et les colorent vivement, de façon homogène. On sait que, dans les vacuoles moins concentrées des cellules différenciées, ces colorants déterminent la formation de précipités vivement colorés, tandis que le reste du volume vacuolaire se colore faiblement.

Le chondriome des cellules méristématiques est à l'état très divisé. Il est le plus souvent formé en majorité de mitochondries granuleuses, qui existent parfois seules, et de courts bâtonnets bacilliformes. Les plastes ne sont pas différenciés et, sauf dans quelques cas particuliers, ils ne peuvent pas être distingués des vrais chondriosomes.

Les granulations lipidiques du cytoplasme sont toujours peu nombreuses et de très petite taille.

Enfin, ce sont les cellules où le *rapport nucléoplasmique* est le plus élevé et qui sont les *plus pauvres en substances paraplasmiques*.

CARACTÈRES CYTOLOGIQUES DES MÉRISTÈMES SECONDAIRES. — Alors que les cellules méristématiques primaires sont habituellement polyédriques et isodiamétriques, les cellules cambiales ont généralement la forme de parallélépipèdes allongés dans le même sens que l'organe où elles se trouvent et souvent aplatis dans le sens radial. Cet allongement est parfois considérable ; c'est en particulier le cas des cellules cambiales d'arbres. Malgré cette forme, les cellules cambiales se divisent toujours par cloisonnements longitudinaux. Il en résulte des figures de cytokinèse fort étranges, lorsque le phragmoplaste élabore la longue plaque cellulaire qui deviendra la nouvelle membrane. Ces mitoses ont été l'objet d'études remarquables de I. W. BAILEY [3, 4], qui en a donné de saisissantes photographies. On y voit la plaque cellulaire s'étendre progressivement dans l'espace de la grande vacuole, pour gagner les parois membranaires les plus éloignées.

Au contraire des cellules des méristèmes apicaux, les cellules cambiales sont relativement pauvres en cytoplasme et la plus grande partie de leur volume est habituellement occupée par une grande vacuole unique, à contenu peu concentré, entouré d'une fine pellicule de cytoplasme pariétal.

A l'état quiescent, le noyau est appliqué contre la membrane ; il est le plus souvent lenticulaire ou fusiforme et relativement petit. Le *rapport nucléoplasmique* est *considérablement moindre* que celui des cellules méristématiques primaires.

A côté des caractères précédents qui les *opposent* aux cellules des méristèmes apicaux, les cellules cambiales en présentent d'autres qui les *rapprochent* des cellules des points végétatifs. Ces ressemblances portent sur le chondriome qui est encore à l'état divisé et forme un ensemble homogène, constitué de mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets, parmi lesquels on ne distingue pas de plastes différenciés.

Comme les cellules apicales, les cellules des méristèmes secondaires ne contiennent que de petites granulations lipidiques, peu nombreuses.

COMPARAISON ET CONCLUSION. — En résumé, les chondriosomes et les plastes des méristèmes primaires et des méristèmes secondaires ont sensiblement le même aspect indifférencié. Les différences frappantes entre ces deux tissus résident dans la *forme des cellules*, isodiamétrique chez les premiers, allongée chez les seconds, et dans les *caractères du cytoplasme*, abondant et renfermant de nombreuses petites vacuoles semi-fluides dans les cellules apicales, tandis que les cellules cambiales sont pauvres en cytoplasme et renferment habituellement une seule grande vacuole centrale.

Au cours de l'ontogénie, on passe des méristèmes apicaux aux méristèmes secondaires par un début d'évolution qui concerne finalement la forme cellulaire, le cytoplasme et les vacuoles. Cette évolution représente une *première phase de différenciation* et aboutit à des cellules à *potentialités histogénétiques plus réduites* que celles des méristèmes primaires.

La plupart des cellules différenciées des Dicotylédones dérivent des cellules cambiales à la suite d'une *seconde phase de différenciation*. Il est donc naturel que ces cellules repassent, à quelques détails près, par ces deux étapes, en sens inverse, au cours de la dédifférenciation.

En résumant maintenant ces processus de rajeunissement, nous suivrons donc les modalités du passage de la structure différenciée à la structure méristématique secondaire (première phase), puis à la structure méristématique primaire (seconde phase). Mais il nous faut dire quelques mots d'abord de la phase préliminaire, qui précède la période réelle de dédifférenciation des cellules les plus évoluées.

II. — La phase préliminaire.

Le plus souvent, des divisions cellulaires constituent les premières manifestations de la régression des cellules adultes, qui normalement ne se diviseraient plus. Toutefois les mitoses peuvent être précédées d'une phase préparatoire. C'est le cas dans les cellules où les produits d'élaboration des plastes sont résorbés (amidon) ou rejetés dans le cytoplasme (carotène), avant que les mitoses n'apparaissent.

Cette phase préliminaire n'est bien développée que lorsqu'il s'agit de cellules très différenciées et riches en produits de réserves, comme les cellules à chromoplastes du parenchyme libérien de Carotte. Elle se traduit par l'élimination des produits de réserves, donc par la diminution du rapport $\frac{\text{paraplasme}}{\text{protoplasme}}$.

Nous avons vu (p. 3) que ce fait est une des caractéristiques de la dédifférenciation, mais il précède la véritable régression des caractères de spécialisation de la matière vivante elle-même.

Lorsque les cellules sont moins évoluées et moins chargées de produits paraplasmiques, la résorption de ces produits se fait peu à peu, en même temps que les cellules se divisent (Tomate, *Brimeura*).

III. — La première phase de dédifférenciation.

L'apparition des premières mitoses marque généralement le début d'une première phase de dédifférenciation, au cours de laquelle les modifications les plus profondes concernent les plastes et les chondriosomes. Après avoir relevé les particularités des premières mitoses, nous dégagerons donc les grandes lignes de l'évolution du chondriome.

CARACTÈRES PARTICULIERS DES PREMIÈRES MITOSES. — Habituellement, pour observer des caryocinèses, on s'adresse à des cellules jeunes, encore indifférenciées, appartenant à des méristèmes primaires. Dans ces cellules, le volume nucléaire est encore très grand relativement au volume cellulaire, et le cytoplasme, abondant, ne renferme que de petites vacuoles. Lorsque la reprise de l'activité prolifératrice atteint des cellules complètement différenciées, qui ne se diviseraient plus dans les conditions normales, les caryocinèses se produisent dans des éléments dont les noyaux sont très petits par rapport au volume de la cellule. De plus, le cytoplasme est peu abondant, et ce volume est occupé en majeure partie par une grande vacuole. Il en résulte que les figures de division revêtent des aspects inaccoutumés.

Tout d'abord, la division du noyau se produit sur un côté de la cellule, contre la membrane, au lieu de se produire au centre. A la fin de la télophase, tandis que se constituent les noyaux-fils, le fuseau achromatique s'aplatit considérablement, mais son bord équatorial ne parvient pas toujours à atteindre de tout son pourtour les bords opposés de la grande vacuole et les parois de la cellule mère. Le fuseau se transforme donc en un phragmoplaste qui élabore une cloison d'abord incomplète. A partir des bords libres de cette cloison, le phragmoplaste, recouvert d'une fine pellicule cytoplasmique, s'étend progressivement à travers la vacuole, rejoint finalement les parois opposées à son lieu de départ et achève la division de la cellule, longtemps après la fin de la caryocinèse.

C'est principalement dans les grandes cellules du liber de Carotte que nous avons étudié ces processus, mais nous les avons retrouvés dans les cellules du péricycle, de l'endoderme et du parenchyme cortical externe de Tomate ; ils se produisent également dans les cellules parenchymateuses de la racine de Chicorée à café.

Dans les feuilles de *Brimeura amethystina*, les dimensions cellulaires restent assez réduites, relativement à celles du noyau, pour que le cloisonnement soit plus rapide et n'exige pas de fonctionnement très prolongé du phragmoplaste.

Par contre, dans les cellules du parenchyme libérien de Tomate qui sont encore voisines de la zone génératrice et ont conservé la forme étroite et allongée des cellules cambiales, il se produit des divisions longitudinales qui rappellent très exactement celles que I. W. BAILEY a décrites dans les cellules cambiales d'arbres [3]. Ici, en effet, le gonflement du noyau amène

celui-ci à occuper toute la largeur de la cellule : il prend donc une position centrale. Le phragmoplaste, longitudinal, forme d'abord une plaque cellulaire réduite au centre de la cellule et s'étend, de part et d'autre de cette origine, vers les parois les plus éloignées (fig. 19, p. 74). Il en résulte que, sur les coupes longitudinales perpendiculaires à la plaque cellulaire, ce phragmoplaste paraît isolé au centre de la vacuole.

LA DÉDIFFÉRENCIATION DES PLASTES. — Dans l'ensemble, plus les plastes sont spécialisés dans les cellules primitives, plus leur régression est précoce. Ainsi nous avons vu que, dans les cellules du parenchyme libérien de Carotte, les chromoplastes commencent à perdre leur amidon, avant même que de véritables processus de dédifférenciation ne se produisent. De même, les chloroplastes de la tige de Tomate résorbent l'amidon qu'ils renferment, puis se dédifférencient, les premiers de tous les éléments de la cellule. Les plastes des cellules de Chicorée à café régressent également dès le début de la dédifférenciation.

Nous avons trouvé une seule exception à cette règle, avec les cellules épidermiques de *Brimeura*, où la dédifférenciation commencée est interrompue momentanément par une amylogénèse intense qui entraîne la *différenciation* des plastes. Ce fait retarde donc leur régression, mais celle-ci s'achève néanmoins avant la fin de la régression des vacuoles. Dans les cellules du mésophylle, l'amylogénèse est très intense, mais elle *précède* la dédifférenciation, qui s'en trouve retardée dans son ensemble.

De toute manière, les plastes, même les plus différenciés, reviennent à l'état de chondriosomes semblables aux chondriosomes ordinaires. En aucun cas, nous n'avons observé la destruction complète de plastes différenciés. Tout au plus, on observe parfois, après la disparition de l'amidon ou des autres produits d'élaboration, que la substance lipoprotéique du plaste se scinde en deux parties : l'une présente les mêmes réactions colorées que les chondriosomes ordinaires, dont elle prend les formes et avec lesquels elle se confond finalement ; l'autre partie, qui semble s'être ajoutée à la première au cours de la différenciation, devient de moins en moins colorable et se comporte comme une substance éliminée dans le cytoplasme, à la suite d'une sorte de processus d'*épuration*. Ce cas se présente en particulier pour les chloroplastes de *Brimeura* et pour les plastes de Chicorée à café. Tout se passe comme si la substance fondamentale qui constitue les plastes indifférenciés des cellules jeunes se régénérât en se séparant des substances qui s'étaient ajoutées à elle au cours de la différenciation.

D'ailleurs, les plastes sont beaucoup moins fragiles vis-à-vis des fixateurs à l'acide acétique (NAVACHINE) avant leur dédifférenciation qu'après ; ils se modifient donc chimiquement dans tous les cas au cours de la dédifférenciation, mais l'épuration ne se traduit pas toujours morphologiquement.

Les processus de régression des plastes, par perte de substance, dépigmentation et parfois divisions répétées, sont très comparables à ceux que

EMBERGER [74] a décrits chez les Cryptogames vasculaires et MANGENOT [180] chez les Algues. Ces auteurs ont également observé la disparition préalable des produits d'élaboration. Par contre, EMBERGER ne mentionne pas, chez les Filicales ni chez les Équisétales, de divisions répétées des chloroplastes au cours de leur régression, aussi actives que celles que nous avons observées chez les Angiospermes.

L'ÉVOLUTION GÉNÉRALE DES CHONDRIOSOMES AU COURS DE LA PREMIÈRE PHASE. — Les modifications des chondriosomes sont généralement plus tardives que celles des plastes. Elles ne deviennent importantes que lorsque la régression de ces derniers touche à sa fin et consistent essentiellement en divisions répétées, par étranglements. Ces fragmentations transforment les chondriocontes en éléments plus courts, tandis que les mitochondries granuleuses et les courts bâtonnets deviennent de plus en plus finement divisés.

Cette évolution est très précoce dans les cellules épidermiques de *Bri-meuira* où il n'existe pas de plastes différenciés : elle se produit alors dès les premières mitoses. Dans les cellules du mésophylle, elle est plus tardive et ne s'amorce que lorsque les chloroplastes, transformés en leucoplastes, commencent à digérer leurs grains d'amidon. Dans les cellules de Chicorée, elle suit de près la régression des plastes. Enfin, dans le parenchyme libérien de Carotte, la segmentation des chondriosomes ne devient active qu'à la fin de la dédifférenciation des chromoplastes.

LA VÉSICULISATION RÉVERSIBLE ET LA VÉSICULISATION IRRÉVERSIBLE DES CHONDRIOSOMES. — Nos recherches sur la Tomate ont montré un processus particulier correspondant au début de la dédifférenciation. Dès que les facteurs qui déterminent la cellule à se dédifférencier se font sentir, les chondriosomes se vésiculisent. Cette transformation est temporaire et réversible ; elle est suivie, à la fin de la première phase, de la segmentation habituelle des chondriosomes redevenus homogènes.

Des phénomènes de vésiculation des chondriosomes ont été fréquemment étudiés et décrits. Les plus connus sont les processus de *cavulation*, qui se produisent lorsque les cellules sont placées dans des conditions défavorables devant entraîner leur mort prochaine (GUILLIERMOND [112], P. DANGEARD [61]). La vésiculation des chondriosomes a été décrite également comme un caractère de la *nécrobiose* des cellules ; elle se produit au cours de la dégénérescence du chondriome des cellules âgées (GUILLIERMOND [112]). Dans tous ces cas, la vésiculation des chondriosomes présente un caractère *morbide* ; elle est *irréversible*.

Tout autre est la signification des processus de *vésiculation réversible* que nous avons signalés dans les cellules en voie de dédifférenciation. Ces dernières ne sont pas, en effet, sur le point de mourir, elles sont au contraire en voie de rajeunissement, et les chondriosomes vésiculisés reviennent bientôt à l'état habituel de mitochondries et de chondriocontes de structure homogène, qui se segmentent activement. La vésiculation réversible

qui affecte les chondriosomes des cellules de Tomate au *début* de leur différenciation n'est donc pas une dégénérescence. Elle traduit, au contraire, une recrudescence de l'activité cellulaire, dont l'orientation est soudain modifiée.

Un autre type de vésiculation, beaucoup plus accentuée, *non réversible*, se produit fréquemment *plus tard*, au cours du développement des tumeurs corticales. La signification de cette vésiculation plus ou moins tardive est tout à fait différente de celle de la précédente, qui apparaît au début de la différenciation. Elle ne correspond pas à une reprise de l'activité de prolifération, mais bien à l'arrêt des divisions et à la diminution de l'activité cellulaires. Ces chondriosomes irréversiblement vésiculisés, formant des organites distendus, de taille démesurée, se rencontrent dans des cellules qui demeurent telles quelles pendant longtemps, sans se segmenter ni se nécroser.

L'évolution de ces chondriosomes rappelle celle qui se produit au cours de la différenciation des tubes criblés de la même plante, lors de la *dégénérescence* de la matière vivante. Cette dernière est également irréversible dans les conditions normales, mais, lorsque les tubes criblés sont assez jeunes, l'intervention expérimentale peut les amener à régresser ; dans ce cas, les vésicules mitochondriales, bien que très grandes, sont susceptibles de revenir à l'état de chondriosomes normaux. Ainsi, même lorsque la vésiculation se présente comme une dégénérescence, tant qu'elle n'est pas trop avancée, elle n'est pas irréversible, et des chondriosomes déjà considérablement distendus en grosses vésicules peuvent encore se régénérer.

LA STRUCTURE DES CELLULES A LA FIN DE LA PREMIÈRE PHASE. — A la fin de la première phase, les seules modifications cytologiques importantes qui se soient produites, indépendamment des mitoses, concernent donc les plastes et les chondriosomes. Le noyau à l'état quiescent s'est parfois enrichi légèrement en chromatine, mais sa structure et sa forme ellipsoïde ont peu changé ; il est toujours appliqué contre la membrane. De même, les cellules renferment toujours une seule vacuole, qui en occupe tout le centre, et le cytoplasme ne constitue encore qu'une pellicule pariétale, d'où partent de fines trabécules qui traversent la vacuole.

Mais, parmi les éléments dispersés dans le cytoplasme, on ne distingue plus de plastes différenciés, car ces derniers ont régressé et se confondent avec la lignée des chondriosomes. Tous ces organites se trouvent, en outre, réduits à l'état de granules ou de courts bâtonnets.

Ces caractères cytologiques sont ceux des cellules méristématiques secondaires des dicotylédones. Mais la différenciation revêt les mêmes aspects cytologiques chez la monocotylédone que nous avons étudiée. La seule différence apparente est que nous ne rencontrons pas chez *Brimeura amethystina*, comme il arrive souvent dans les exemples choisis chez les Dicotylédones, l'agencement de ces cellules en zones génératrices, caractère histologique qui confirme le rapprochement que nous venons de faire. Nous voyons donc que, *même chez les Monocotylédones, où l'anatomie ne*

révèle pas la présence de zones cambiales, la dédifférenciation passe par l'étape structurale des cellules méristématiques secondaires. L'absence de méristèmes secondaires chez ces plantes n'entraîne donc pas de processus particuliers de dédifférenciation, et cette dernière va se poursuivre chez Brimeura d'une manière analogue à celle réalisée chez les Dicotylédones au cours de la seconde phase de dédifférenciation que nous examinerons maintenant.

IV. — La seconde phase de dédifférenciation.

Parmi les cellules parvenues au *stade méristématique secondaire*, ou *stade cambial*, à la fin de la première phase, celles qui continuent à se dédifférencier passent de la structure cambiale à la structure de *cellules méristématiques primaires* au cours d'une *seconde phase de dédifférenciation*.

Alors que les transformations les plus importantes de la première phase affectaient les plastes et les chondriosomes, ce sont maintenant le noyau, le cytoplasme et les vacuoles qui vont se modifier le plus. Toutefois, le chondriome, qui ne constitue déjà plus qu'un seul ensemble homogène, sans plastes différenciés, se transforme encore légèrement. Nous envisageons donc successivement ces divers constituants.

L'ÉVOLUTION DU NOYAU. — Au cours de la première phase de dédifférenciation, le noyau reste appliqué contre la membrane nouvelle à la suite de chaque mitose et ne s'enrichit que très légèrement en chromatine. Au début de la seconde phase, son évolution devient plus apparente : il quitte le côté de la cellule et gagne la région centrale. Simultanément, il s'épaissit et tend vers la forme sphérique, jusqu'à ce que les cellules deviennent trop étroites et l'obligent à redevenir ovoïde ou ellipsoïde.

Dans certains cas, les nucléoles grossissent au cours de la dédifférenciation (cellules péricycliques de Tomate), mais le fait ne paraît pas général. Au contraire, on observe toujours un enrichissement très net en chromatine. Les noyaux des espèces étudiées possèdent tous un réseau chromatique, mais aussi des granulations chromocentriques plus ou moins importantes. Tantôt c'est surtout le réseau qui manifeste l'augmentation de la chromatine, soit qu'il devienne plus serré et plus épais (*Brimeura*), soit que ses trabécules s'épaississent sans que les mailles se resserrent (Tomate). Tantôt ce sont surtout les granulations chromocentriques qui deviennent plus volumineuses et plus nombreuses (Carotte). Les deux processus peuvent d'ailleurs se produire simultanément (Chicorée à café). Au cours de cette évolution, le volume nucléaire diminue plus ou moins, mais de toute façon dans des proportions bien moindres que le volume cellulaire. Le rapport du volume nucléaire au volume total de la cellule augmente donc beaucoup ; ainsi, il est multiplié par 25 chez la Tomate, par 30 chez *Brimeura* et par 200 chez la Carotte. Le rapport nucléoplasmique, ou rapport du volume nucléaire au volume de la matière vivante seule, le volume de

la vacuole étant éliminé, est le plus intéressant, mais il est difficile à évaluer avec une précision bien significative. Toutefois, il paraît bien augmenter aussi de plusieurs fois sa valeur initiale pendant la dédifférenciation.

Au cours de la prolifération, toutes les divisions des noyaux se font par mitoses typiques ; nous n'avons pas rencontré de caryocinèses anormales, ni de phénomènes de polyploïdie en rapport avec la dédifférenciation.

L'ÉVOLUTION DU CYTOPLASME ET DES VACUOLES. — La seconde phase de dédifférenciation est essentiellement marquée par l'accroissement considérable de la quantité de cytoplasme, relativement au volume cellulaire, et par la segmentation de la grande et unique vacuole en de nombreuses vacuoles de plus en plus petites.

Ces petites vacuoles ont d'abord des aspects globuleux, puis leur contenu paraît se concentrer et augmenter de viscosité. Elles subissent alors des déformations plus ou moins durables sous l'influence des mouvements du cytoplasme. et forment, à la fin de la dédifférenciation, des enclaves très petites, globuleuses (méristèmes radiculaires adventifs de Tomate) ou parfois filamenteuses et plus ou moins étirées (*Brimeura*, Carotte, Chicorée). Les fixateurs conservent alors souvent leur contenu, qui se montre très colorable. Ces vacuoles deviennent donc finalement identiques aux vacuoles habituelles des cellules méristématiques primaires.

L'ÉVOLUTION DU CHONDRIOME. — Dès la fin de la première phase, les chondriosomes et les plastes sont confondus en un seul ensemble homogène, comprenant des mitochondries et de courts bâtonnets.

Pendant la seconde phase, ces éléments continuent à se segmenter et deviennent de plus en plus petits et nombreux. Le chondriome des cellules méristématiques finales est donc extrêmement dispersé.

L'ABOUTISSEMENT DE LA SECONDE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION. — A la fin de l'évolution régressive dont nous venons de tracer les grandes lignes, les cellules renferment donc un noyau central, sphérique ou presque, très volumineux relativement aux dimensions cellulaires, entouré de cytoplasme dense et abondant, qui ne contient que de très petites vacuoles à contenu concentré. Dans le cytoplasme sont répartis de nombreux chondriosomes très fins, mitochondries ou courts bâtonnets, parmi lesquels on ne reconnaît pas de plastes différenciés. Ces caractères sont ceux des *cellules méristématiques primaires*. L'étude histologique nous a d'ailleurs montré que de véritables méristèmes apicaux de tiges ou de racines s'organisent à la fin de la dédifférenciation. Au cours de la seconde phase, les cellules en voie de rajeunissement passent donc de la structure des cellules méristématiques secondaires à la structure des cellules méristématiques primaires.

Cette phase évolutive correspond sensiblement à la dédifférenciation des cellules cambiales d'Orme cultivées *in vitro*, décrite brièvement par

PHASE PRÉLIMINAIRE (ÉVENTUELLE)	PREMIÈRE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION	2 ^e PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION
— <i>Amylogénèse</i> et transformation des chloroplastes en amyloplastes dépigmentés : = <i>Brimeura</i> : cellules du mésophylle. — <i>Résorption de l'amidon</i>, entraînant un début de dédifférenciation des plastides : = Parenchyme libérien de Carotte.	— <i>Début de la prolifération</i> : dans tous les cas. — <i>Dédifférenciation des plastides</i> : × <i>Amyloplastides</i>. — Résorption de l'amidon et régénération de la substance mitochondriale. = <i>Brimeura</i> : cellules de l'épiderme et du mésophylle. × <i>Chloroplastides</i>. — Résorption de l'amidon, dépigmentation, retour à la forme de chondriosomes à la suite de divisions répétées. = Tige de Tomate : cellules de l'assise sous-épidermique et du collenchyme (tumeurs) ; de l'endoderme, du péricycle et du parenchyme libérien (racines adventives). = Mésophylle de <i>Brimeura</i>. × <i>Chromoplastides</i>. — Résorption de l'amidon, parfois du carotène. Le plus souvent : séparation du cristallite et de la substance mitochondriale et retour de celle-ci à l'état de chondriosomes à la suite de divisions répétées. = Parenchyme libérien de Carotte. × <i>Plastes non pigmentés, mal définis</i>. — Régénération de la substance mitochondriale par élimination des produits surajoutés à cette partie fondamentale au cours de la différenciation. = Tissus des racines de Chicorée à café. — <i>Modifications des chondriosomes</i> : × <i>Vésiculation réversible</i> au début de la dédifférenciation. = Tige de Tomate : cellules de l'assise sous-épidermique et du collenchyme (tumeurs) ; de l'endoderme, du péricycle et des cellules non chlorophylliennes du parenchyme libérien (racines adventives). × <i>Segmentation en granules (mitochondries) et en courts bâtonnets</i>. = Dans tous les cas.	— <i>Recrudescence localisée de la prolifération</i> : = Dans tous les cas, mais surtout dans les tissus libériens de Carotte. — <i>Évolution du noyau</i> : Tendance à devenir sphérique ; enrichissement en chromatine ; déplacement vers le centre de la cellule. = Dans tous les cas. — <i>Segmentation des vacuoles ; accroissement de la quantité de cytoplasme</i>. = Dans tous les cas. <i>Résultat</i> : passage à l'état structural des cellules méristématiques primaires (évolution parfois incomplète).
<i>Résultat</i> : diminution du rapport protoplasme . (Carotte). Début de régression du chondriome.	<i>Résultat</i> : Passage à l'état structural des cellules méristématiques secondaires.	

GAUTHERET [101] (Cf. p. 37). Et, de fait, les cellules primitives étudiées par l'auteur ont déjà la structure de cellules méristématiques secondaires.

En esquisant les traits essentiels de la dédifférenciation, nous avons négligé certains faits particuliers dont nous aurons à parler à propos de considérations d'ordre physiologique. Avant d'aborder ces questions, nous résumerons, dans le tableau ci-dessus, les grandes lignes de la dédifférenciation dans les exemples que nous avons étudiés.

CHAPITRE III

CONSIDÉRATIONS PHYSIOLOGIQUES

Les recherches descriptives dont nous venons de dégager les résultats les plus généraux nous ont conduit à des considérations d'ordre physiologique, que nous exposerons brièvement pour terminer.

I. — Remarques sur les modalités du retour à l'état indifférencié.

LE CHANGEMENT DE SPÉCIALISATION SANS RETOUR A L'ÉTAT EMBRYONNAIRE. — La reprise de l'activité prolifératrice par des cellules différenciées entraîne toujours la régression de leurs structures spécialisées. Nous avons vu que cette régression structurale ne traduit pas forcément une dédifférenciation profonde ; elle ne peut être interprétée que lorsque les cellules régressées ont dévoilé leurs potentialités histogénétiques, ce qui nécessite une phase de *redifférenciation* à la suite de la période de régressions structurales.

Lorsque la redifférenciation est tardive, les régressions structurales sont parfois très poussées et les cellules reprennent finalement les caractères cytologiques des cellules méristématiques primaires. Le pouvoir organogénétique de ces dernières prouve alors qu'il s'agissait bien d'une dédifférenciation à la fois physiologique et morphologique.

Dans d'autres cas, la redifférenciation se produit de très bonne heure avant que les régressions structurales aient pris beaucoup d'ampleur. Les mitoses cessent également très tôt, et l'évolution se traduit plutôt par un changement de différenciation que par un accroissement de potentialités caractéristique d'une dédifférenciation importante. Cette adaptation d'une spécialisation à une autre rappelle les processus signalés en histologie animale par VIRCHOW [276] sous le nom de *métaplasie*. De tels processus se produisent, par exemple, au cours de l'ossification.

C'est à propos des raccordements vasculaires entre les bulbilles et les racines néoformées sur les boutures de feuilles de *Brimeura* que nous avons songé à ce rapprochement. Les tissus conducteurs de raccordement se différencient, en effet, aux dépens de cellules chlorophylliennes du mésophylle qui se divisent d'abord, mais très peu, et s'adaptent rapidement à leurs nouvelles fonctions. Toutefois, cette adaptation n'est pas tout à fait directe, puisque des mitoses se produisent ; ces processus ne répondent donc pas exactement à la définition de VIRCHOW, qui introduit la condition de *persistance des cellules* au cours de la transformation. Il reconnaît cependant que la métaplasie est souvent précédée de processus « hyperplasiques », c'est-à-dire de prolifération. Mais alors

elle ne désigne plus qu'un cas particulier de redifférenciation de cellules adultes après une légère dédifférenciation.

Il est probable que ces processus de remaniements ne comportant qu'une régression sommaire des cellules se produisent, d'une manière générale, au voisinage des organes néoformés qui se constituent dans des tissus déjà différenciés.

PROLIFÉRATION ET ORGANOGÈNESE. — Nous avons étudié particulièrement, au cours de ces recherches, des cas où l'organogenèse n'apparaît qu'après une longue période de prolifération, au cours de laquelle les régressions structurales sont très profondes. Ces régressions se font alors en deux temps : les cellules reviennent d'abord à l'état méristématique secondaire, puis à l'état méristématique primaire. La première phase de prolifération ne comporte jamais d'organogenèse. Elle conduit tout au plus à l'édification de zones génératrices qui produisent des tissus plus ou moins mal organisés.

Au contraire, les cellules qui se dédifférencient au delà du stade cambial manifestent toujours une forte tendance à s'agencer en *organes* dans lesquels se constitue un méristème primaire.

Ainsi naissent des racines sur les tiges de Tomate, dans le mésophylle de *Brimeura* ou dans le parenchyme libérien de Carotte, dès que les cellules s'engagent dans la seconde phase de dédifférenciation. Il en est de même de la formation de bourgeons sur l'épiderme des feuilles de *Brimeura*, dans les tissus de la racine de Chicorée à café ou dans les tumeurs corticales de Tomate.

Cette seconde phase, seule organogène, se produit localement, à partir de quelques-unes seulement des cellules qui ont subi la première. Il apparaît donc, au cours de cette dernière étape, un facteur nouveau, déterminant l'organisation, qu'il serait intéressant de préciser. Remarquons que les cellules capables de régénérer les méristèmes radiculaires décapités, dans les expériences de JOST [142], de GAUTHERET [89] et de ROBBINS, BARTLEY et WHITE [224], sont précisément dans un état de différenciation intermédiaire entre les structures méristématiques primaire et secondaire : cet état est comparable à celui des cellules qui subissent la phase organogène de la dédifférenciation.

Ces faits s'accordent également avec les résultats de COUDRY (1942) [55 bis], qui a observé, sur des fragments en survie de rhizomes de *Ranunculus repens*, la formation de *pseudo-racines*. Ces excroissances ne s'organisent pas en racines normales, mais, corrélativement, les diverses cellules qui leur donnent naissance ne se dédifférencient pas au delà du stade méristématique secondaire.

Ces facultés d'organogenèse opposent donc physiologiquement la seconde phase de dédifférenciation à la première et concordent avec les distinctions cytologiques que nous avons données de ces phases. Une telle opposition se retrouve dans les caractères physiologiques des méristèmes

normaux, primaires et secondaires. On sait, en effet, que les cellules des méristèmes primaires, sauf les quelques initiales apicales, présentent des potentialités organogénétiques dont les méristèmes secondaires sont dépourvus. Ces faits sont bien mis en évidence par les tentatives de culture de tissus à partir de méristèmes primaires, qui n'ont jamais fourni que des *cultures d'organes*, alors que R.-J. GAUTHERET, en s'adressant à des méristèmes secondaires, a réussi le premier à obtenir de *véritables cultures de tissus végétaux*, c'est-à-dire des proliférations indéfinies de cellules qui ne s'agencent pas en organes.

On pourrait objecter à cette généralisation que, dans les tumeurs corticales de Tomate, les petites cellules qui subissent la seconde phase de dédifférenciation ne s'organisent souvent que d'une manière très sommaire. Nous pensons qu'il ne s'agit pas là d'une exception constituant un caractère spécifiquement tumoral. En effet, il semble bien que, dans tous les cas où les conditions physiologiques (nutrition, échanges gazeux) permettent le maintien de l'activité prolifératrice, l'organisation se poursuit également. Lorsque celle-ci demeure sommaire, on constate simultanément que la prolifération est pratiquement suspendue, ce qui se traduit par des modifications cytologiques très caractéristiques.

Ces faits nous conduisent à envisager maintenant quelques renseignements que l'évolution cytologique peut fournir sur l'état physiologique des cellules.

II. — Les indications physiologiques fournies par l'évolution morphologique des constituants cellulaires.

Le fonctionnement de la cellule a nécessairement des répercussions sur les constituants qui jouent un rôle dans ses mécanismes. Mais ces conséquences ne se traduisent pas morphologiquement avec autant d'ampleur sur toutes les parties de la cellule. Les processus que nous avons étudiés supposaient de profonds changements d'orientation de l'activité physiologique des cellules qui se dédifférencient ; ils devaient donc être favorables à l'étude des conséquences morphologiques des modifications de l'activité cellulaire. De fait, nous avons constaté que ces modifications se reflètent avec beaucoup plus de fidélité sur certains constituants cellulaires que sur d'autres. Ainsi, alors que l'aspect du noyau quiescent est peu variable, le chondriome manifeste toujours une sensibilité remarquable. Quant au cytoplasme et aux vacuoles, leurs modifications sont intéressantes dans certains cas particuliers.

LA SENSIBILITÉ RÉACTIONNELLE DU CHONDRIOME. — Le chondriome est toujours le premier à se modifier au début de la dédifférenciation : il traduit de très bonne heure le changement d'orientation de l'activité de la cellule. En général, les plastes se dédifférencient tout d'abord, puis l'ensemble du chondriome se disperse en particules de plus en plus fines et nombreuses. Au moment où se produit une recrudescence de l'activité

cellulaire, et en particulier de l'activité prolifératrice, l'état du chondriome devient donc de plus en plus divisé. Il en résulte qu'à masse égale la surface du chondriome s'accroît.

Inversement, nous avons observé des ralentissements de croissance et de prolifération cellulaires lors de la formation des ébauches radiculaires spontanées et des tumeurs corticales sur les tiges de Tomates. Dans les deux cas, les chondriosomes s'allongent, grandissent et deviennent moins nombreux dans chaque cellule après chaque mitose. Ces faits paraissent traduire une diminution de la surface du chondriome dans les cellules dont l'activité est ralentie. Le cas le plus net est fourni par les cellules des zones génératrices peu actives formées dans les tumeurs. De même, dans les ébauches radiculaires dont la croissance est suspendue, les chondriosomes s'allongent d'une manière inaccoutumée pour des initiales méristématiques.

Ces observations s'accordent avec l'hypothèse, bien difficile à vérifier, selon laquelle le chondriome aurait un rôle important de *catalyseur de surface*. Quoi qu'il en soit, il semble qu'un chondriome à l'état de particules ténues traduise, en général, une grande activité cellulaire. Il n'est pas souvent possible de définir la nature de cette activité par la seule observation du chondriome, mais l'observation de l'ensemble du tissu peut fournir des précisions : elle peut dévoiler, par exemple, une croissance ou une prolifération intenses.

En dehors de ces manifestations qui paraissent très générales, le chondriome des cellules de Tomate présente des réactions de vésiculation remarquables, dont il serait intéressant de reconnaître la fréquence chez les diverses espèces de Phanérogames et de préciser la signification.

En résumé, nos observations montrent que le chondriome est très sensible aux modifications de l'activité des cellules, dont il fournit un reflet morphologique facilement repérable. Il nous semble intéressant d'insister sur cette réactivité morphologique, qui mériterait d'être étudiée plus spécialement que nous l'avons fait, en la reliant à des conditions physiologiques déterminées avec précision. Signalons à ce propos que MANGENOT [181] a décrit des modifications morphologiques réversibles du chondriome au cours de la mitose dans les racines d'*Allium cepa*.

LES MODIFICATIONS DE L'APPAREIL VACUOLAIRE. — Au contraire du chondriome, l'appareil vacuolaire se montre généralement peu sensible morphologiquement aux variations de l'activité cellulaire. Nous avons vu qu'il ne se modifie d'une manière notable qu'à la fin de la différenciation. Toutefois, il n'est pas dénué d'intérêt pour caractériser certains états physiologiques des cellules.

En particulier, les variations de la vitesse de croissance ou de prolifération ont parfois des répercussions très nettes sur l'appareil vacuolaire. Nous en trouvons des exemples dans les ébauches radiculaires spontanées et dans les méristèmes peu fonctionnels des tumeurs corticales développées les unes et les autres sur les tiges de Tomate. Dans les cellules méristéma-

tiques, tout ou partie des petites vacuoles s'agrandissent et se chargent de produits tannoïdes et autres. Ces substances forment souvent, dans les vacuoles des cellules observées vitalement, des corps de structure hétérogène, qui ont été décrits parfois comme caractéristiques des tumeurs (RIKER). En réalité, ils se trouvent donc également dans les ébauches radiculaires spontanées. Dans l'un et l'autre cas, ils paraissent bien en rapport avec l'arrêt ou le ralentissement considérable de la prolifération et de la croissance. En effet, ils ne se forment pas dans les ébauches qui percent l'écorce et poursuivent leur développement ni dans les régions actives des tumeurs.

III. — La plasticité des cellules végétales.

Les résultats que nous avons exposés dans ce mémoire montrent que de nombreux types de cellules végétales sont capables de perdre leurs caractères de spécialisation et, après une période de prolifération plus ou moins longue, de se redifférencier dans des voies différentes de la différenciation première.

Nous avons assisté à de telles transformations à partir de cellules d'épidermes (*Brimeura*), de parenchymes chlorophylliens de feuilles (*Brimeura*) ou de tiges (Tomate), de cellules endodermiques et péricycliques (Tomate), de parenchymes libériens (Tomate, Carotte, Chicorée), de cellules-compagnes et de jeunes tubes criblés (Tomate), de parenchyme vasculaire (Chicorée), de collenchyme (Tomate) et enfin de zones génératrices libéro-ligneuses (Carotte, Chicorée) et d'assises subéro-phellodermiques (Chicorée).

C'est en généralisant des observations analogues que K. GÆBEL a prétendu, d'une manière peut-être trop absolue, que toute cellule d'un végétal supérieur est susceptible de reproduire un individu complet.

Sans aller jusqu'à cette affirmation bien catégorique, nous soulignerons, en terminant ces considérations, la grande plasticité des cellules végétales. Nous dirons que toute cellule d'Angiosperme non frappée de dégénérescence est susceptible de se différencier plus ou moins profondément lorsqu'il a été possible de réaliser les conditions nécessaires. Elle est toujours capable de se remettre à proliférer, de perdre ses caractères structuraux de spécialisation et de se spécialiser différemment par la suite. Toutefois, elle ne retrouve pas toujours les potentialités multiples des cellules embryonnaires, et sa descendance n'est pas toujours capable de se développer en une plante entière, ni même en un organe complet. Ainsi, la différenciation des cellules épidermiques des feuilles de *Brimeura* ou des cellules parenchymateuses de la racine de Chicorée conduit à l'édification d'organismes complets, tandis que les cellules péricycliques de Tomate, celles du parenchyme libérien de Carotte ou du mésophylle de *Brimeura* ne fournissent que des racines, et que les cellules endodermiques ou les cellules-compagnes du liber de Tomate ne fournissent que certains tissus des ébauches radiculaires.

De toute manière, ces faits montrent que les cellules végétales vivantes sont généralement capables de perdre les caractères physiologiques et structuraux de leur différenciation et d'en acquérir d'autres ; elles ne sont donc pas irrévocablement « déterminées », même dans les tissus complètement différenciés. Ce caractère les oppose aux cellules animales, dont la différenciation paraît irréversible, contrairement à ce qu'avait pensé CHAMPY.

Ainsi, on peut considérer que la différenciation des cellules, animales et végétales, entraîne la réduction progressive des *potentialités histogénétiques*, mais, dans le cas des cellules animales, cette réduction est *réelle*, tandis qu'elle n'est qu'*apparente* dans le cas des cellules végétales. Au lieu de dire que les cellules végétales qui se dédifférencient *retrouvent* des potentialités histogénétiques *perdues*, nous pourrions dire avec plus de vraisemblance qu'elles *dévoilent* des potentialités dont les corrélations organiques inhibaient la manifestation dans l'organisme normal.

Le type de spécialisation d'une cellule végétale paraît donc dépendre essentiellement de conditions qui lui sont extérieures, en particulier de sa situation dans la plante et des circonstances *présentes* du développement de celle-ci. Lorsque ces circonstances se modifient, la cellule considérée est susceptible de perdre sa différenciation première, de se remettre à proliférer et de donner naissance à des cellules qui se différencieront dans des voies diverses.

Par exemple, une cellule de péricycle peut accomplir pendant un certain temps des fonctions spécialisées telles que l'assimilation chlorophyllienne, puis, sous l'influence de conditions extérieures, elle peut cesser d'exercer ces fonctions, se dédifférencier et produire les tissus d'un point végétatif radicaire.

Cette faculté d'adaptation aux conditions du moment paraît manquer aux cellules animales.

* * *

Ainsi, après avoir annoncé dans notre introduction que nous espérions faire de cette étude cytologique *évolutive* une transition entre la morphologie et la physiologie cellulaires, nous devons constater, en terminant cet exposé, que nous n'avons fait qu'effleurer le domaine de la physiologie, où nous avons posé plus de problèmes que nous n'en avons résolus. Nous devons donc revenir avec modestie à cette idée que la morphologie cellulaire seule est impuissante à dévoiler les mécanismes de la physiologie, dont l'étude dépend étroitement de l'invention de techniques nouvelles, telle que les cultures de tissus. Toutefois, la cytologie permet souvent de *repérer* avec précision l'état *évolutif* et l'*activité* des cellules ; elle constitue ainsi un précieux auxiliaire de la cytophysiologie.

BIBLIOGRAPHIE

1. AGRICOLA (G.-A.). — L'agriculture parfaite, ou nouvelles découvertes touchant la culture et la multiplication des arbres, des arbustes et des fleurs, etc. (Amsterdam, 1720, 407 p.).
2. ALVARADO (S.). — Die Entstehung der Plastiden aus Chondriosomen in den Paraphysen von *Mnium cuspidatum* (*Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, 1923, XLI, p. 85-96).
3. BAILEY (I. W.). — Phenomena of cell division in the cambium of arborescent Gymnosperms and their cytological significance (*Proc. nat. Acad. of Sciences*, 1919, V, p. 283-285).
4. — The formation of cell plate in the cambium of the higher plants (*Ibid.*, 1920, VI, p. 197-200).
5. — The cambium and its derivative tissues. — III. A reconnaissance of cytological phenomena in the cambium (*Am. Journ. of Bot.*, 1920, VII, p. 417-434).
6. — The cambium and its derivative tissues. — V. A reconnaissance of the vacuome in living cells (*Zeitschr. für Zellforsch.*, 1930, X, p. 651-682).
7. BALANSARD (J.) et PELLISSIER (F.). — Action de l'hétéroauxine sur le bouturage foliaire de quelques Bégoniacées (*C. R. Soc. Biol.*, 1942, CXXXVI, p. 305-307).
8. — Le bouturage foliaire et l'action inhibitrice des produits de sécrétion naturelle des plantes (*Ibid.*, p. 307-308).
9. — Action de l'acide indole acétique sur l'enracinement des feuilles de Lierre (*Hedera helix* L.) (*Ibid.*, p. 562-564).
10. — Nouveaux résultats sur l'action de l'hétéroauxine, facteur d'enracinement des feuilles ou parties de feuilles (*Ibid.*, p. 624-625).
11. — Le bourgeonnement épiphyllé provoqué par l'hétéroauxine dans la feuille d'*Achimenes grandiflora* DC. (Gesnéracées) (*Ibid.*, p. 625-626).
12. BARFURTH (D.). — Zur Regeneration der Gewebe (*Archiv für Mikr. Anat.*, 1891, XXXVII, p. 406-491).
13. BARTSCH (O.). — Die histiogenese der Planarienregenerate (*Archiv. für Mikr. Anat. und Entwickl.*, 1923, XCIX, p. 187-220).
14. BEAL (J. M.). — Histological responses of three species of *Lilium* to Indoleacetic acid. (*Bot. Gaz.*, 1938, XCIX, p. 881-911).
15. BEALS (C. M.). — An histological study of regenerative phenomena in plants (*Ann. of the Missouri bot. garden*, 1923, X, p. 369-384).
16. BEIJERINCK (M. W.). — Beobachtungen und Betrachtungen über Wurzelknospen und Nebenwurzeln (*Natuurkund. Verhandl. Kong. Akad. Wetensch. Amsterdam*, 1886, XXV, p. 1-150).
17. BERTHELOT (A.) et AMOUREUX (G.). — Sur la sensibilité des plantules aseptiques à quelques substances carcinogènes (*C. R. Acad. Sc.*, 1937, CCIV, p. 517-519).
18. BERTHON (R.). — Recherches sur l'origine et le mode de formation des radicelles chez quelques Angiospermes (*Mém. Diplôme d'ét. sup.*, Paris, 1942).
19. BISCHLER (V.). — Rôle du squelette dans la régénération des membres du Triton (*C. R. Soc. de Phys. et d'Hist. nat. de Genève*, 1923, XL, p. 158-160).
20. — L'influence du squelette dans la régénération et les potentialités des divers territoires du membre chez *Triton cristatus* (*Revue suisse de Zool.*, 1926, XXXIII, p. 431-560).

21. BISCHLER (V.) et GUYENOT (E.). — Les potentialités régénératives dans les pattes privées de squelette (*C. R. Soc. Biol.*, 1925, XCII, p. 774-776).
22. BORNHAGEN (H.). — Die Regeneration (Aposporie) des Sporophyten von *Anthoceros laevis* (*Biol. Zent.*, 1926, XLVI, p. 578-586).
23. BORTHWICK (H. A.), HAMNER (K. C.) et PARKER (M. W.). — Histological and microchemical studies of the reactions of Tomato plants to indoleacetic acid (*Bot. Gaz.*, 1937, XCVIII, p. 491-519).
24. BOUYGUES (H.). — Apparition des tissus et des régions dans le sommet de la tige des Phanérogames (*C. R. Ac. Sc.*, 1916, CLXII, p. 395-397).
25. BOVET (D.). — Les territoires de régénération, leurs propriétés étudiées par la méthode de déviation du nerf (*Revue Suisse de Zool.*, 1930, XXXVII, p. 83-145).
26. BRAUN (L.). — Regeneration in *Bryophyllum calycinum* (*Bot. Gaz.*, 1918, LXV, p. 191-193).
27. BROWN (N. A.). — The tendency of the crown gall organism to produce roots in conjunction with tumors (*Journ. of Agric. research*, 1929, XXXIX, p. 747-766).
28. BUVAT (R.). — Sur l'origine double des racines nées dans les cultures *in vitro* de liber de Carotte sous l'influence de l'hétéroauxine (*C. R. Ac. Sc.*, 1941, CCXII, p. 808-810).
29. — Observations histologiques sur l'origine des bulbilles et des racines dans les boutures de feuilles de *Brimeura Amethystina* L. (Liliacées) (*C. R. Soc. Biol.*, 1941, CXXXV, p. 857).
30. — Phénomènes de dédifférenciation épidermique dans les boutures de feuilles de *Brimeura Amethystina* L. (Liliacées) (*C. R. Ac. Sc.*, 1941, CCXIII, p. 314-316).
31. — Sur la dédifférenciation des cellules chlorophylliennes dans les boutures de feuilles de *Brimeura Amethystina* L. (Liliacées) (*C. R. Ac. Sc.*, 1941, CCXIII, p. 660-663).
32. — Structure du noyau chez *Brimeura Amethystina* L. (Liliacées) (*C. R. Soc. Biol.*, 1942, CXXXVI, p. 430-431).
33. — Sur la dédifférenciation des cellules du parenchyme libérien de Carotte cultivé *in vitro* en présence d'hétéroauxine (*C. R. Ac. Sc.*, 1942, CCXIV, p. 634-636).
34. — Sur les premières divisions des cellules du parenchyme libérien de Carotte cultivé *in vitro* (*C. R. Ac. Sc.*, 1942, CCXIV, p. 984-986).
35. — Sur la dédifférenciation des chromoplastes du parenchyme libérien de Carotte en cultures de tissus (*C. R. Ac. Sc.*, 1942, CCXV, p. 447-448).
36. — Phénomènes de dédifférenciation dans les tumeurs corticales produites chez la Tomate (*C. R. Ac. Sc.*, 1943, CCXVI, p. 127-129).
37. — Phénomènes de dédifférenciation dans le bourgeonnement des tissus du tubercule de Chicorée à café cultivés *in vitro* (*C. R. Ac. Sc.*, 1943, CCXVI, p. 574-576).
38. — Phénomènes de dédifférenciation dans la formation de racines adventives sur les tiges de Tomate. — I. Histologie (*C. R. Ac. Sc.*, 1944, CCXXVIII, sous presse).
39. — *Id.* — II. Dédifférenciation des cellules chlorophylliennes (*C. R. Ac. Sc.*, 1944, CCXXVIII, sous presse).
- 39 bis. — *Id.* — III. Dédifférenciation des cellules non chlorophylliennes du liber (*C. R. Ac. Sc.*, 1944, CCXXVIII, sous presse).
40. CARLSON (M. C.). — Origin of adventitious roots in *Coleus* cuttings (*Bot. Gaz.*, 1929, LXXXVII, p. 119-126).
41. — Origin and development of shoots from the tips of Roots of *Pogonia ophio-glossoides* (*Bot. Gaz.*, 1938, C, p. 215-225).
42. CHAMPY (C.). — Sur les phénomènes cytologiques qui s'observent dans les tissus cultivés en dehors de l'organisme. I. Tissus épithéliaux et glandulaires (*C. R. Soc. Biol.*, LXXII, 1912, p. 987).
43. — Sur les phénomènes cytologiques qui s'observent dans les tissus cultivés en dehors de l'organisme (*Bibliographie anatomique*, 1913, XXXIII, p. 184).
44. — Le sort des tissus cultivés en dehors de l'organisme (*Revue génér. des Sc.*, 1913, XXIV, p. 790-801).

45. BUVAT (R.). — Réapparition d'une prolifération active dans des tissus différenciés d'animaux adultes cultivés en dehors de l'organisme (*C. R. Soc. Biol.*, 1913, LXXV, p. 532).
46. — Quelques résultats de la méthode des cultures de tissus. I. Généralités. — II. Le muscle lisse. Note préliminaire (*Arch. Zool. exp. et gén.*, 1913-1914, LIII, p. 42). — III. Lerein (*Id.* 1914, LIV, p. 307). — IV. La rétine (*Id.*, 1914, LV, p. 1.). — V. La glande thyroïde (1915, LV, p. 61). — VI. Le testicule (1920, LX, p. 462).
47. CHEVREMONT (M.). — Les éléments du muscle squelettique cultivé *in vitro* : leur transformation en histiocytes (*C. R. Soc. Biol.* 1939, CXXXII, p. 487-490).
48. — Le muscle squelettique cultivé *in vitro*. Transformation d'éléments musculaires en macrophages (*Arch. de Biol.*, 1940, LI, p. 313-334).
49. CHOUARD (P.). — Régénération des bulbilles sur les feuilles vertes de certaines Liliacées (*C. R. Ac. Sc.*, 1930, CXCI, p. 1146-1148).
50. — Types de développement de l'appareil végétatif chez les Scillées (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 10^e série, XIII, 1931, p. 131-323).
51. — Intervention de l'épiderme dans la formation des bulbilles sur les feuilles vertes des Liliacées (*C. R. Ac. Sc.*, 1933, CXCVII, p. 1685).
52. — Développement complet d'un végétal par bourgeonnement d'origine épidermique (*C. R. Soc. Biol.*, 1935, CXIX, p. 208).
53. CLAMP (G.). — Leaf development and vegetative propagation in *Kalanchoe tubiflora* (*Proc. bot. Soc. Edinburgh*, 1934, XXXI, p. 327-338).
54. COE (W. R.). — Regeneration in Nemerteans (*The Journ. of Zool.*, 1929, LIV, p. 411-459).
55. CONNARD (M. H.) et ZIMMERMANN (P. W.). — The origin of adventitious roots in cuttings of *Portulaca oleracea* L. (*Contr. from Boyce Thomps. Inst.*, 1931, III, p. 337-346).
- 55 bis. — Coudry (G.). — Réactions morphologiques après section du rhizome de *Ranunculus repens* L. (*Mém. Dipl. ét. sup.*, Paris, 1942).
56. CROOKS (D.-M.). — Histological and regenerative studies on the flax seedlings (*Bot. Gaz.*, 1933, XCV, p. 209-239).
57. DANGEARD (P.-A.). — Sur la nature du chondriome de la cellule (*C. R. Ac. Sc.*, 1918, CLXVI, p. 439).
58. — Sur la distinction du chondriome des auteurs en vacuome, plastidome et sphérome (*C. R. Ac. Sc.*, 1919, CLXIX, p. 1005).
59. — Plastidome, vacuome et sphérome dans *Selaginella Kraussiana* (*C. R. Ac. Sc.*, 1920, CLXX, p. 301).
60. — La structure de la cellule végétale et son métabolisme (*C. R. Ac. Sc.*, 1920, CLXX, p. 709-714).
61. DANGEARD (P.). — Recherches sur les modifications du protoplasme dans les conditions permettant la survie des cellules (*Le Botaniste*, série 31, mai 1942).
62. DIXON (H. H.). — Adventitious buds on *Drosera rotundifolia* (*Notes from Bot. School Trinity College*, Dublin, 1901, p. 144-145).
63. DOLJANSKI (L.). — Sur le rapport entre la prolifération et l'activité pigmentogène dans les cultures d'épithélium de l'iris (*C. R. Soc. Biol.*, 1930, CV, p. 343).
64. — Le glycogène dans les cultures de foie (*C. R. Soc. Biol.*, 1930, CV, p. 504).
65. DORN (H.). — Histologische Studien über die Entwicklung Sprossbürtiger Wurzeln nach Heteroauxinbehandlung (*Planta*, 1938, XXVIII, p. 20-42).
66. DOULIOT (H.). — Recherches sur la croissance terminale de la tige des Phanérogames (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 7^e série, XI, 1890, p. 283-350).
67. — Recherches sur la croissance terminale de la tige des Graminées (*Ibid.*, XIII, 1891, p. 93-102).
68. EBELING (A. H.). — Cultures pures d'épithélium proliférant *in vitro* depuis dix-huit mois (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, XC, p. 562).
69. — A pure strain of thyroid cells and its characteristics (*The Journ. of exp. Medicine*, 1925, XLI, p. 337-346).
70. EBELING (A. H.) et FISCHER (A.). — Mixed cultures of pure strains of fibroblasts and epithelial cells (*The Journ. of exp. Med.*, 1922, XXXVI, p. 285-289).

71. EMBERGER (L.). — Évolution du chondriome dans la formation du sporange chez les Fougères (*C. R. Ac. Sc.*, 1920, CLXX, p. 469-471).
72. — Étude cytologique des organes sexuels des Fougères (*Ibid.*, CLXXI, p. 735-737).
73. — Contribution à l'étude cytologique du sporange chez les Fougères (*Ibid.*, 1921, CLXXIII, p. 1485-1487).
74. — Recherches sur l'origine et l'évolution des plastides chez les Ptéridophytes. Contribution à l'étude de la cellule végétale (*Arch. de morph. gén. et exp.*, 1921, 186 p.).
75. — Sur l'évolution des plastides chez les Végétaux (Equisétacées) (*C. R. Ass. fr. av. sc.*, 1922).
76. ÉPHRUSSI (B.). — La culture des tissus (*Actualités biologiques*, Gauthier-Villars, édit., Paris, 1932).
77. ERIKSSON (J.). — Ueber das Urmeristem der Dikotyledonen-Wurzeln (*Jahrb. f. Wiss. Bot.*, 1878, XI, p. 380-436).
78. FIGDOR (W.). — Ueber Restitutionserscheinungen an Blättern von Gesneriaceum (*Jahrb. f. Wiss. Bot.*, 1907, XLIV, p. 41-56).
79. FISCHER (A.). — A three months old strain of epithelium (*Journ. of exp. Med.*, 1922, XXXV, p. 367).
80. — The differentiation and keratinisation of epithelium *in vitro* (*Journ. of exp. Med.*, 1924, XXXIX, p. 585-587).
81. — Sur la culture indéfiniment prolongée *in vitro* des cellules carcinomateuses (*C. R. Soc. Biol.*, 1927, XCXVI, p. 1118).
82. — Proliferation und Differenzierung der Gewebezellen *in vitro* (*Protoplasma*, 1932, XIV, p. 307-319).
83. FISCHER (A.) et PARKER (R. C.). — Differentiation and proliferation *in vitro* (*Proc. of the Soc. for exp. Biol. and Med.*, 1929, XXVI, p. 583).
84. — A new technique for the study of tissues in a state of latent life *in vitro* (*Ibid.*, 1929, XXVI, p. 385).
85. FISCHNICH (O.). — Ueber den Einfluss von β -Indolelessigsäure auf die Blattbewegungen und die adventiwurzelbildung von *Coleus* (*Planta*, 1935, XXIV, p. 552-583).
86. FLAHAULT (Ch.). — Recherches sur l'accroissement terminal de la racine chez les Phanérogames (*Ann. Sc. Nat., Bot.*, 6^e série, VI, 1878, p. 1-168).
87. FRITSCH (C.). — Experimentelle Studien über Regenerationsvorgänge des Gliedmassenskelets der Amphibien (*Zool. Jahrb., Physiologie*, 1911, XXX, p. 377-472).
88. GALTISOFF (P. S.). — Regeneration after dissociation (An experimental study on Sponges) (*The Journ. of exp. Zool.*, 1925, XLII, p. 183-255).
89. GAUTHERET (R.-J.). — Recherches sur la culture des tissus végétaux. Essais de culture de quelques tissus méristématiques (*Thèse Paris*, 1935, 280 p.).
90. — Caractères anatomiques des fragments de tubercules de Carotte cultivés *in vitro* (*C. R. Soc. Biol.*, 1938, CXXVII, p. 259).
91. — Caractères cytologiques de tranches de tubercules de Carotte cultivées *in vitro* (*C. R. Soc. Biol.*, 1938, CXXVII, p. 609).
92. — Recherches sur la culture de fragments de tubercules de Carotte (*C. R. Ac. Sc.*, 1938, CCVI, p. 457).
93. — Sur la possibilité de réaliser la culture indéfinie des tissus du tubercule de Carotte (*C. R. Ac. Sc.*, 1939, CCVIII, p. 118).
94. — Action de l'acide indole- β -acétique sur les tissus du tubercule de Carotte (*C. R. Soc. Biol.*, 1939, CXXX, p. 7).
95. — Remarques relatives à l'action de l'acide indol- β -acétique sur les cultures de tissus de Carotte (*C. R. Soc. Biol.*, 1939, CXXXI, p. 78).
96. — Recherches expérimentales sur la polarité des tissus de tubercule de Carotte (*C. R. Ac. Sc.*, 1940, CCXI, p. 15).
97. — Recherches sur la croissance de fragments de tissus de quelques végétaux appartenant à la famille des Composées (*C. R. Ac. Sc.*, 1941, CCXII, p. 1098).
98. — Caractères anatomiques et cytologiques de tranches d'Endive, Salsifis et Topinambour cultivées *in vitro* (*C. R. Soc. Biol.*, 1941, CXXXV, p. 875).

99. GAUTHERET (R.-J.). — Sur le repiquage des cultures de tissus d'Endive, de Salsifis et de Topinambour (*C. R. Ac. Sc.*, 1941, CCXIII, p. 317).
100. — Manuel technique de culture des tissus végétaux, Masson, édit., Paris, 1942.
101. — Le bourgeonnement du tissu cambial cultivé *in vitro* (*Sciences*, 1942, XL, p. 95-128).
102. — Recherches sur le développement de fragments de tissus végétaux cultivés *in vitro* (*Rev. de cytologie et de cytophys. végét.*, 1942-1943, VI, p. 85-208).
103. GEBEL (K.). — Entwicklungsgeschichte des Prothalliums von *Gymnogramme leptophylla* Desv. (*Bot. Zeit.*, 1877, XXXV, p. 671-678, 682-694, 698-711).
104. — Ueber Regeneration in Pflanzenreich (*Biol. Centr.*, 1902, XXII, p. 385-397).
105. — Einleitung in die experimentelle Morphologie der Pflanzen (Leipzig et Berlin, 1908).
106. GOLDBERG (E.). — Root and shoot production induced in Cabbage by β -indole acetic acid (*Science*, n. s., LXXXVII, 1938, p. 511-512).
107. — Histological responses of Cabbage plants grown at different levels of nitrogen nutrition to indole- β -acetic acid (*Bot. Gaz.*, 1938, C, p. 347-369).
108. GRAHAM (R. J. D.) et STEWART (L.-B.). — Regeneration from roots of *Anchusa italica* (*Trans. proc. of Bot. soc. of Edinburgh*, 1927, XXIX, p. 333-334).
109. GREENLEAF (W. H.). — Induction of polyploidy in *Nicotiana* (*Science*, 1937, LXXXVI, p. 565-566).
110. GUILLIERMOND (A.). — Sur le mode de formation du pigment dans la racine de Carotte (*C. R. Ac. Sc.*, 1912, CLV, p. 411-414).
111. — Recherches cytologiques sur le mode de formation de l'amidon et sur les plastides des Végétaux (leuco, chloro et chromoplastes). Contribution à l'étude des mitochondries chez les Végétaux (*Arch. Anat. micr.*, 1912, XIV, p. 310-428, pl. XIII à XVIII).
112. — Observations vitales sur le chondriome des Végétaux et recherches sur l'origine des chromoplastides et le mode de formation des pigments xanthophylliens et carotinien. Contribution à l'étude physiologique de la cellule (*Revue génér. de Bot.*, 1919, XXXI, p. 372-413, 446-508, 532-603, 635-770, pl. X à XLV).
113. — Sur l'origine des vacuoles dans les cellules de quelques racines (*C. R. Soc. Biol.*, 1920, LXXXIII, p. 411-414).
114. — Nouvelles recherches sur les constituants morphologiques du cytoplasme de la cellule végétale (*Arch. Anat. micr.*, 1924, XX, p. 1-210, 15 planches).
115. — Les constituants morphologiques du cytoplasme : le chondriome (*Actualités scientifiques et ind.*, CLXX, Hermann, édit., Paris, 1934).
116. — Les constituants morphologiques du cytoplasme : le système vacuolaire ou vacuome (*Ibid.*, CLXXI, 1934).
117. — Introduction à l'étude de la cytologie (*Actualités scientif. et ind.*, 741-742-743, Hermann, édit., Paris, 1938).
118. GUILLIERMOND (A.), MANGENOT (G.) et PLANTEFOL (L.). — *Traité de cytologie végétale*, 1195 p., Le François, édit., Paris, 1933. (*Bibliographie détaillée.*)
119. GUYÉNOT (E.) et PONSE (K.). — Territoires de régénération et transplantations (*Bull. biol. de la France et de la Belgique*, 1930, LXIV, p. 251-287).
120. HAMMERLING (J.). — Die ungeschlechtliche Fortpflanzung und Regeneration bei *Ælosoma hemprichii* (*Zool. Jahrb. Physiol.*, 1924, XLI, p. 581-656).
121. — Ueber dauernd teilungsfähige Körperzellen bei *Ælosoma hemprichii* (Ehrbg) (*Biol. Zentr.*, 1924, XLIV, p. 169-173).
122. HAMMOND (B. L.). — Regeneration of *Podostemon ceratophyllum* (*Bot. Gaz.*, 1936, XCVII, p. 834-845).
123. HAMNER (K. C.). — Histological responses of *Mirabilis jalapa* to indole acetic acid (*Bot. Gaz.*, 1938, XCIX, p. 912-954).
124. HAMNER (K. C.) et KRAUS (E. J.). — Histological reactions of Bean plants to growth promoting substances (*Bot. Gaz.*, 1937, XCVIII, p. 735-807).
125. HANSEN (A.). — Vergleichende Untersuchungen über adventivbildungen bei den Pflanzen (*Abhand. Herausg. von der Senckenb. Naturforsch. Ges.*, 1881, XII, p. 147-198).

126. — HANSTEIN (J.). — Die Scheitelzellgruppe im Vegetationspunkt der Phanerogamen (*Abhand. aus dem Gebiete der Naturwiss. Math. und Med. Bonn.*, 1868).
127. — Die Entwicklung des Keimes der Monocotyledonen und Dicotyledonen. (*Bot. Abhand. Bonn.*, 1870, p. 1).
128. HARRISON (B. F.). — Histological responses of *Iresine Lindenii* to Indole acetic acid (*Bot. Gaz.*, 1937, XCIX, p. 301-338).
129. HARTSEMA (A. M.). — Anatomische und experimentelle Untersuchungen über das Auftreten von Neubildungen an Blättern von *Begonia Rex* (*Recueil des travaux bot. néerl.*, 1926, XXIII, p. 305-361).
130. HEDGCOCK (G. G.). — Field studies of the crown gall and hairy root of the apple tree (*U. S. Depart. of Agric. Bureau of Plant Ind. Bull.*, 1910, CLXXXVI, p. 1-108).
131. HILL (J. B.). — The migration of *Bacterium tumefaciens* in the tissue of Tomato plants (*Phytopathology*, 1928, XVIII, p. 553-564).
132. HILL (J. B.), BRITTINGHAM (W. H.), GIBBONS (F. B.) et WATTS (G. W.). — Further notes on *Bacterium tumefaciens* and its hosts relationship (*Phytopathology*, 1930, XX, p. 179-186).
133. HOLLE (H. G.). — Ueberbau und Entwicklung der Vegetationsorgane der Ophioglossen (*Bot. Zeit.*, 1875, XXXIII, p. 240-254).
134. — Ueber den Vegetationspunkt der Angiospermen Wurzeln, insbesondere die Haubenbildung (*Bot. Zeit.*, 1876, XXXIV, p. 241-263).
135. HOWARD (H. W.). — Possible action of phytohormones as root determiners (*An. of Bot.*, nouv. s., II, 1938, p. 933-942).
136. HOWE (M. D.). — A morphological study of the notches of *Bryophyllum. calycinum* (*Am. Journ. of Bot.*, 1931, XVIII, p. 387-390).
137. IRMISCH (T.). — Einige Bemerkungen über *Neottia nidus-avis* und einige andere, Orchideen (*Abh. Naturwiss. Vereine zu Bremen*, 1870, V, p. 503-509).
138. IVANOFF (S. S.) et RIKER (A. J.). — Studies on the movement of the crown gall organism within the stems of Tomato plants (*Phytopathology*, 1930, XX, p. 817-829).
139. JANCZEWSKI (E. DE). — Recherches sur le développement des racelles dans les Phanérogames (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, série 5, XX, 1874, p. 208-233).
140. — Recherches sur l'accroissement terminal des racines dans les Phanérogames (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, série 5, XX, 1874, p. 162-201).
141. JOHNSON (M. A.). — The origin of foliar pseudobulbils in *Kalanchoe Daigremontiana* (*Bull. Torrey bot. club*, 1934, LXI, p. 355-366).
142. JOST (L.). — Die determinierung der Wurzelstruktur (*Zeit. f. Bot.*, 1931, XXV, p. 481-522).
143. KAPEL (O.). — Ueber Reinkultur von Epithel *in vitro* (*Arch. f. exp. Zell.*, 1927, IV, p. 143).
144. KISSER (J.). — Ueber die Wirkungen carcinogener Substanzen bei Pflanzen (*Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, 1939-1940, LVII, p. 506-515).
145. KNIEP (H.). — Sur le point végétatif de la tige de l'*Hippuris vulgaris* (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 8^e série, XIX, 1904, p. 293-303).
146. — KNY (L.). — Stammscheitel von *Hippuris vulgaris* und *Elodea canadensis* (*Sitzgb. der Ges. Naturforsch. Freunde zu Berlin*, 1878).
147. — Ueber den Einfluss von Zug und Druck auf die Richtung der Scheidewände in sich teilenden Pflanzenzellen (*Jahrb. f. Wiss. Bot.*, 1902, XXXVII, p. 55-98).
148. KOSTOFF (D.). — Tumors and other malformations on certain *Nicotiana* hybrids (*Zentr. f. Bakt., Paras. und Infekt.*, 1930, LXXXI, p. 244-260).
149. — Tumor problem in the light of researches on plant tumors and galls, and its relation to the problem of mutation (*Protoplasma*, 1934, XX, p. 440-456).
150. — Heritable tumors in plants experimentally produced (*Genetica*, 1935, XVII, p. 367-376).
151. KOSTOFF (D.) et KENDALL (J.). — Cytology of Nematode galls on *Nicotiana* roots (*Zentr. f. Bakt., Paras. und Infekt.*, 1930, LXXXI, p. 86-91).
152. — Studies on plant tumors and polyploidy produced by Bacteria and other agents (*Arch. f. Mikrobiol.*, 1933, IV, p. 487-508).

153. KRAUS (E. J.), BROWN (N. A.) et HAMNER (K. C.). — Histological reactions of Bean plants to Indoleacetic acid. (*Bot. Gaz.*, 1936, XCVIII, p. 370-420).
154. KÜSTER (E.). — Pathologische Pflanzenanatomie, Fischer, édit., Iena, 1925 (3^e édit.).
155. KWASNIKOV (B. V.). — La multiplication végétative de la Chicorée au moyen des boutures de la racine (*Bull. Acad. Sc. de l'U. R. S. S., classe des sc. math. et biol.*, série biol., n° 1, 1937, p. 333-392).
156. LANG (P.). — Experimentelle und histologische studien an Turbellarien. I. Heteromorphose und polarität bei Planarien (*Arch. f. Mikr. Anat.*, 1913, LXXXII, p. 257-270).
157. LANG (W. H.). — On apospory in *Anthoceros laevis* (*Ann. of Bot.*, 1901, XV, p. 503-510).
158. LASER (H.). — Züchtung von Flexner-Jobling-Rattencarcinom *in vitro* (*Zeit. f. Krebsforsch.*, 1927, XXV, p. 297).
159. LEMAIRE (A.). — Recherches sur l'origine et le développement des racines latérales chez les Dicotylédones (*Ann. Sc. Nat., Bot.*, 7^e série, III, 1886, p. 163-274).
160. — LEVI (G.). — Explantation (*Ergebnisse der Anat. und Entwick.*, 1934, XXXI, p. 126-707).
161. LEVI (G.) et CHÈVREMONT (M.). — Transformations structurales des éléments des muscles squelettiques pendant leur croissance *in vitro*. Relations entre mitochondries et myofibrilles (*Arch. de Biol.*, 1941, LII, p. 523-551).
162. LEVIN (I.) et LEVINE (M.). — Malignancy of the crown gall and its analogy to animal cancer (*Journ. of Cancer res.*, 1920, V, p. 243-260).
163. LEVINE (M.). — Studies of plant Cancers. I. The mechanism of the formation of the leafy crown gall (*Bull. Torrey bot. Club*, 1919, XLVI, p. 447-452).
164. — Studies of plant-Cancers. V. Leafy crown galls on Tobacco resulting from *B. tumefaciens* inoculations (*Phytopathology*, 1923, XIII, p. 107-116).
165. — Studies in the cytology of Cancer (*Am. Journ. of cancer*, 1931, XV, p. 144-211, 788-834 et 1410-1494).
166. — Plant tumors and their relation to cancer (*Bot. Rev.*, 1936, II, p. 439-455).
167. — The response of plants to localized applications of various chemical agents (*Bull. Torrey bot. Club*, 1936, LXIII, p. 177-199).
168. — Tumors of Tobacco hybrids (*Am. Journ. of Bot.*, 1937, XXIV, p. 250-256).
169. — Crown-gall-like tumors induced with Scharlach Red on the plant *Kalanchoe* (*Proc. of the Soc. of exp. Biol. and Med.*, 1939, XL, p. 599-603).
170. LEVINE (M.) et CHARGAFF (E.). — The response of plants to chemical fractions of *B. tumefaciens* (*Am. Journ. of Bot.*, 1937, XXIV, p. 461-471).
171. LEWIS (M. R.) et LEWIS (W. H.). — Behavior of cells in tissue cultures (*In General Cytology*, COWDRY, 1924).
172. LINDNER (R. C.). — Effects of Indoleacetic and Naphthylacetic acids on development of buds and roots in Horseradish (*Bot. Gaz.*, 1939, C, p. 500-526).
173. LINK (G. K. K.), WILCOX (H. W.) et LINK (A. D.). — Responses of Bean and Tomato to *Phytomonas tumefaciens*, *P. tumefaciens* extracts, β -indoleacetic acid and wounding (*Bot. Gaz.*, 1937, XCVIII, p. 816-867).
174. LINSBAUER (K.). — Studien über die Regeneration des Sprossvegetationspunktes (*Denk. Kaiserl. Akad. der Wiss. in Wien. Math. Naturwiss. Klasse*, 1917, XCIII, p. 107-138).
175. — Ueber Regeneration der Farnprothallien und die Frage der « Teilungsstoffe » (*Biol. Zent.*, 1926, XLVI, p. 80-96).
176. LISON (L.). — Histochimie animale, méthodes et problèmes, 1 vol., Gauthier-Villars, édit., Paris, 1936.
177. LONAY (H.). — Recherches anatomiques sur les feuilles de l'*Ornithogalum caudatum* Ait. (*Mém. Soc. roy. des Sc. de Liège*, 1902, IV, 75 p.).
178. MAGROU (J.). — Le *B. tumefaciens* dans les tissus du cancer des plantes (*C. R. Ac. Sc.*, 1926, CLXXXIII, p. 986).
179. — Recherches anatomiques et bactériologiques sur le cancer des plantes (*Ann. de l'Institut Pasteur*, 1927, XLI, p. 785).

180. MANDENOT (G.). — Recherches sur les constituants morphologiques du cytoplasma des Algues (*Arch. de morphol. gen. et exp.*, 1922, IX, 330 p.).
181. — Recherches sur l'action des substances mitoclasiques. I. Action de la colchicine sur les racines d'*Allium cepa* (*Actualités scientif. et ind.*, n° 915, Hermann, édit., Paris, 1942.).
182. MARONAT (H. et Em.). — Aposporie et sexualité chez les Mousses (*Bull. Acad. roy. de Belgique, Cl. des sc.*, 1° 1907, VII; 2° 1909, XII, p. 1249; 3° 1911, p. 750).
183. McVICKER (J.). — Regeneration in *Crassula multicava* (*Am. Journ. of Bot.*, 1938, XXV, p. 7-11.).
184. MIREVINOV (P. F.). — Coloration différentielle des Bactéries et des Chondriosomes (*Arch. anat. Micr.*, 1928, XXIV, p. 19-31).
185. — Zur Kytologie der Pflanzentumoren (*Protoplasma*, 1930, X, p. 294-296).
186. MITCHELL (J. W.) et MARTIN (W. E.). — Effect of Indoleacetic acid on growth and chemical composition of etiolated bean plants (*Bot. Gaz.*, 1937, XCIX, p. 171-183).
187. MORGAN (T. H.). — Growth and regeneration in *Planaria lugubris* (*Arch. f. Entw. mech. der Org.*, 1902, XIII, p. 179-212).
188. MORTE (J.). — Contribution à la connaissance cytologique des Muscinées (*Ann. Sc. Nat., Bot.*, 1928, XX, p. 293-543).
189. MORTHEAT (J.). — Rhizogenèse chez *Coleus*, sous l'influence de l'hétéroauxine. Histologie et physiologie du phénomène (*Bull. Soc. roy. de Bot. de Belgique*, 1940-41, LXXIII, p. 142-199).
190. MÜLLER (K.). — Das Regenerationsvermögen der Süsswasserschwämme, etc. (*Arch. f. Entw. mech. der Org.*, 1911, XXXII, p. 397-446).
191. MUNCEIS (J. H.). — A study of Crookgall caused by *Pseudomonas tumefaciens* on rosaceous hosts (*Iowa State Coll. Journ. of Science*, 1926, I, p. 67-117).
192. NAGAI (I.). — Physiologische untersuchungen über Farnprotallien (*Flora NF*, VI, 1914, p. 281-330).
193. NÄGELI et LEITGER. — Entstehung und Wachsthum der Wurzeln (*Nägeli's Beil. zur Wiss. Bot.*, 1868, 4^e cahier, p. 138).
194. NAUDIN (M.). — Note sur les bourgeons nes sur une feuille de *Drosera intermedia* (*Ann. Sc. Nat., Bot.*, 2^e série, 1840, XIV, p. 15-17).
195. NAVILLE (A.). — Histogenèse et regeneration du muscle chez les Anoures (*Arch. de biol.*, 1922, XXXII, p. 37-171).
196. — Recherches sur l'histogenèse et la regeneration chez les Batraciens anoures (Chorde dorsale et teguments) (*Arch. de Biol.*, 1924, XXXIV, p. 235-344).
197. NAYLOR (E. E.). — The morphology of regeneration in *Bryophyllum calycinum* (*Am. Journ. of Bot.*, 1932, XIX, p. 32-40).
198. NAYLOR (E. E.) et JOHNSON (B.). — A histological study of vegetative reproduction in *Saintpaulia ionantha* (*Am. Journ. of Bot.*, 1937, XXIV, p. 673-678).
199. NEMEC (B.). — Studien über regeneration, 1 vol., Berlin, 1905.
200. — Ueber Pflanzentumoren (*Arch. f. Exp. Zellforsch.*, 1928, VI, p. 172-177).
201. NOBÉCOURT (P.). — Culture en serie de tissus vegetaux sur milieu artificiel (*C. R. Ac. Sc.*, 1937, CCV, p. 521).
202. — Sur les radicelles naissant des cultures de tissus de tubercule de Carotte (*C. R. Soc. Biol.*, 1939, CXXX, p. 1271).
203. — Recherches sur le developpement de fragments aseptiques de tubercules de Scorsonère, de Salsifis et de Topinambour et sur la culture de leurs tissus (*Bull. Soc. linnéenne de Lyon*, janvier 1942).
204. NUSSBAUM (M.). — Ueber die Theilbarkeit der lebendigen Materie (*Arch. f. mikr. Anat.*, 1887, XXIX, p. 265-336).
205. OLIVO (O.). — Sulle modificazioni strutturali e funzionali del miocardio di pollo coltivato *in vitro* (*Arch. f. exp. Zellforsch.*, 1929, VIII, p. 250).
206. ORSOS (O.). — Untersuchungen über Organdifferenzierungen (*Biol. Zentr.*, 1938, LVIII, p. 366-370).
207. PARAT (M.). — Mise en evidence du chondriome et des lipoides cellulaires (*Bull. d'hist. appl.*, 1926, III, p. 222).

208. PÉREZ (Ch.). — Contribution à l'étude des métamorphoses (*Bull. scient. de France et de Belgique*, 1902, XXXVII, p. 195-427).
209. — Recherches histologiques sur les métamorphoses des Muscides (*Arch. Zool. exp. et gén.*, 1910, IV, p. 1-274).
210. — Observations sur l'histolyse et l'histogenèse dans la métamorphose des Vespidés (*Mém. de l'Acad. roy. de Belgique, cl. des sciences*, in-4°, 1911, III).
211. PINOY (E.). — A propos du cancer des plantes ou Crown gall (*C. R. Ac. Sc.*, 1925, CLXXX, p. 311).
212. PFEFFER (N. E.). — Anatomical study of root production on application of Indolebutyric acid to *Cissus* aerial roots (*Contr. from. Boyce Thomps. Inst.*, 1937, VIII pl. 493-506).
213. PREVOT (P.-G.). — La néoformation des bourgeons chez les Végétaux (*Mém. Soc. Roy. Liège*, 1949, 4^e série, fasc. III, p. 175-342).
214. PRIESTLEY (J. H.) et SWINGLE (C. F.). — Vegetative propagation from the standpoint of plant anatomy (*U. S. Dep. of Agr., techn. bull.*, 1929, CLI, p. 27-86).
215. PRILLIEUX (E.). — De la structure anatomique et du mode de végétation du *Neottia nidus-avis* (*Ann. Sc. Nat., Bot.*, 1856, V, p. 267-279).
216. PROBST (G.). — Regenerationsstudien an Anneliden und *Branchiostoma lanceolatum* Pallas (*Revue Suisse de Zool.*, 1930, XXXVII, p. 343-351).
217. PROWAZEK (S.). — Zur Regeneration des Schwanzes der Urodelen Amphibien (*Arb. aus den Zool. Inst. der Univ. Wien*, 1902, XIII, p. 81-124).
218. RANDOLPH (H.). — The regeneration of the tail in *Lumbriculus* (*Journ. of Morph.*, 1892, VII, p. 317-344).
219. REGAUD (Cl.). — Études sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogenèse chez les Mammifères (*suite*) (*Arch. anat. micr.*, 1910, XI, p. 291-[296-7]-431).
220. REILHES (R.). — Stérides et phospholipides dans le système vacuolaire de la cellule végétale (*Revue de Cytol. et de Cytophys. végét.*, 1936, II, p. 97-212).
221. REINKE (J.). — Untersuchungen über Wachstumsgeschichte und Morphologie der Phanerogamen Wurzel (*Hanstein's Bot. Abh.*, 1871, I, 3^e fasc., p. 1-50).
222. RIKER (A.). — Some relations of the crown gall organism to its host tissue (*Journ. of Agric. res.*, 1923, XXV, p. 119-132).
223. — Cytological studies of crown gall tissue (*Am. Journ. of Bot.*, 1927, XIV, p. 25-37).
224. ROBBINS (W. J.), BARTLEY (M.) et WHITE (V. B.). — Growth of fragments of excised root tips (*Bot. Gaz.*, 1936, XCVII, p. 554-579).
225. ROBINSON (W.). — Reproduction by budding in *Drosera* (*Torrey*, 1909, IX, p. 89-96).
226. ROBINSON (W.) et WALKDEN (H.). — A critical study of crown gall (*Ann. of Bot.*, 1923, XXXVII, p. 299-324).
227. ROSE (M.). — Recherches expérimentales sur la cécidogenèse et les néoplasies chez les Végétaux (*Bull. biol. Fr. et Belg.*, LXXIII, 1939, p. 336-366).
228. — Production expérimentale de tumeurs par piqûres multiples sur la feuille de Chou cultivé (*C. R. Soc. Biol.*, 1941, CXXXV, p. 1485-1487).
229. — Production expérimentale de tumeurs sur la feuille de Chou par la technique du « Puceron artificiel » (*Ibid.*, p. 1491-1492).
230. — Tumeurs expérimentales chez *Pelargonium zonale* (*Ibid.*, p. 1493-1494).
231. ROSE (M.) et BERTHELOT (J.). — Sur la production de tumeurs expérimentales chez les Végétaux supérieurs par inoculation de venin de *Cobra Naja Tripudians* (*C. R. Ac. Sc.*, 1939, CCVIII, p. 1112-1114).
232. SALISBURY (R. A.). — The genera of Plants. A fragment containing part of Loriogamae (Publ. posthume par J. E. Gray, Londres).
233. SALISBURY (E. J.). — On the occurrence of vegetative propagation in *Drosera* (*Ann. of Bot.*, 1915, XXIX, p. 308-310).
234. SANDISON (S.). — The rooting of cuttings of *Lonicera japonica* : a preliminary account (*The New Phys.*, 1934, XXXIII, p. 211-217).

235. SAYLES (L. P.). — Origin of the mesoderm and behavior of the nucleolus in regeneration in *Lumbriculus* (*Biol. Bull. Wood's Hole*, 1927, LII).
236. SCHILBERSZKY (K.). — Künstlich hervorgerufene Bildung secundärer (extrafasciculärer) Gefässbündel bei Dicotyledonen (*Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.*, 1892, X, p. 424-432).
237. SCHILLING (E.). — Ein Beitrag zur Physiologie der Verholzung und des Wundreizes (*Pringsheim: Jahrb. f. Wiss. Bot.*, 1923, LXII, p. 528-562).
238. SCHOUTE (F. C.). — Die Stelärtheorie (Gröningen et Iena, 1903).
239. SCHULTZ (E.). — Ueber Reduktionen. I. Ueber Hungerscheinungen bei *Planaria Lactæa* (*Archiv f. Entw. mech. der Org.*, 1904, XVIII, p. 555-577).
240. SCHWENDENER (S. VON). — Ueber das Scheitelwachsthum der Phanerogamen-Wurzel (*Sitz. der Königl. Preuss. Akad. der Wiss. zu Berlin*, 1882, 2^e série, I, p. 183-199).
241. SCOTT (F. M.). — Anatomy of Auxin treated etiolated seedlings of *Pisum sativum* (*Bot. Gaz.*, 1938, C, p. 167-185).
242. SIEGLER (E. A.). — The wooly Knot type of crown gall (*Journ. of Agric. res.*, 1929, XXXIX, p. 427-450).
243. SIEGLER (E. A.) et PIPER (R. B.). — Aerial crown gall of the Apple (*Ibid.*, p. 249-262).
244. SIMON (S.). — Untersuchungen über die Regeneration der Wurzelspitze (*Jahrb. f. Wiss. Bot.*, 1904, XL, p. 103-143).
245. SMITH (A. I.). — Adventitious roots in stem-cuttings of *Begonia maculata* and *B. semperflorens* (*Am. Journ. of Bot.*, 1936, XXIII, p. 511-515).
246. SMITH (E. F.). — Crown gall studies showing changes in plant structures due to a changed stimulus (*Journ. of Agric. res.*, 1916, VI, p. 179-181).
247. — Embryomas in plants (produced by bacterial inoculations) (*Bull. of the John Hopkins Hospital*, 1917, XXVIII, p. 277-294).
248. — Effect of crown gall inoculations on *Bryophyllum* (*Journ. of Agric. res.*, 1921, XXI, p. 593-597).
249. SMITH (E. F.), BROWN (N. A.) et TOWNSEND (C. O.). — Crown gall of plants, its cause and remedy (*U. S. Dep. of Agric., Bureau of Plant Industry Bull.*, 1911, CCXIII, p. 1-215).
250. SMITH (E. F.) et TOWNSEND (C. O.). — A plant tumor of bacterial origin (*Science*, 1907, XXV, p. 671-673).
251. SMITH (E. P.). — A comparative study of the stem structure of the genus *Clematis*, with special references to anatomical changes induced by vegetative propagation (*Trans. Roy. Soc. Edinburgh*, 1928, L, p. 643-664).
252. SOLACOLU (T.), CONSTANTINESCO (D.) et M^{me} CONSTANTINESCO (M.). — Étude anatomique et cytologique des modifications provoquées par les substances organoformatives sur les tiges de *Vicia faba* L. (*C. R. Ac. Sc.*, 1938, CCVI, p. 1985-1986).
253. SOLACOLU (T.), CONSTANTINESCO (D.) et ILIESCO (C.). — Action de l'acide phénylrotonique sur la cellule végétale (*C. R. Soc. Biol.*, 1939, CXXX, p. 583-585).
254. STEINMANN (P.). — Untersuchungen über das Verhalten des Verdauungssystems, bei der Regeneration der Tricliden (*Archiv. f. Entw. mech. der Org.*, 1908, XXV, p. 523-568).
255. — Prospective analyse von Restitutionsvorgängen. I Teil: die Vorgänge in dem Zellen, gewebe und organen Während der Restitution von Planarienfragmenten (*Ibid.*, 1926, CVIII, p. 646-679).
256. STEVENS (N. M.). — A histological study of Regeneration in *Planaria simplicissima*, *P. maculata* and *P. Morgani* (*Arch. f. Entw. mech. der Org.*, 1907, XXIV, p. 350-373).
257. STOUT (H. N.). — Gemmipary in *Brynesia Weinbergii* (*Am. Journ. of Bot.*, 1934, XXI, p. 562-572).
258. — Gemmipary in *Kalanchoe rotundifolia* and other Crassulaceæ (*Ibid.*, 1938, XXV, p. 106-109).
259. SWINGLE (C. F.). — Burrknot formations in relation to the vascular system of the Apple stem (*Journ. of Agric. res.*, 1927, XXXIV, p. 533-544).

260. TAUBE (E.). — Regeneration mit Beteiligung ortsfremder Haut bei Tritonen (*Arch. f. Entw. mech. der Org.*, 1921, XLIX, p. 269-315).
261. — Ueber die histologischen Vorgänge bei der Regeneration von Tritonen mit Beteiligung ortsfremder Haut (*Ibid.*, 1923, XCVIII, p. 98-120).
262. — Zur Frage der Chimärenbildung und umstimmbarkeit (*Ibid.*, 1925, CV, p. 581-586).
263. — Notiz zur Frage der Beteiligung transplanterter Haut an der Regeneration (*Ibid.*, 1930, CXXI, p. 204-209).
264. TAYLOR (G.). — The origin of adventitious growth in *Acanthus montanus* (*Trans. and Proc. of the Bot. Soc. of Edinburgh*, 1926, XXIX, p. 291-296).
265. THOMAS (J.-A.). — La différenciation des organites d'Echinodermes en survie *in vitro* (*C. R. Ac. Sc.*, 1941, CCXIII, p. 252-254).
266. TINCKER (M. A. H.). — Growth substances, root production and cambial activity in Woody cuttings (*Nature*, 1937, CXXXIX, p. 1104-1105).
267. TOWLE (E. W.). — On muscie regeneration in the limbs of *Plethodon* (*Biol. Bull. Wood's Hole*, 1901, II, p. 289-299).
268. TRÉCUL (A.). — Recherches sur l'origine des racines (*Ann. Sc. Nat., Bot.*, 1846, 3^e série, VI, p. 303-345).
269. — Sur l'origine des bourgeons adventifs (*Ibid.*, 1847, 3^e série, VIII, p. 268-295).
270. TREUB (M.). — Le méristème primitif de la racine dans les Monocotylédones (*Musée bot. de Leyde*, 1876, n° 2).
271. VANDEL (A.). — Recherches expérimentales sur les modes de reproduction des Planaires triclades paludicoles (*Bull. biol. de Fr. et de Belg.*, 1921, LV, p. 343-518).
272. VAN DER LEK (H. A. A.). — Root development in woody cuttings (Résumé anglais) (*Meded. Landbouwh. Wagen. Verhand.*, 1924, XXVIII, p. 211-230).
273. VAN TIEGHEM (P.). — *Traité de botanique*, Paris, 1891.
274. VAN TIEGHEM (P.) et DOULIOT (H.). — Recherches comparatives sur l'origine des membres endogènes dans les plantes vasculaires (*Ann. Sc. Nat., Bot.*, 1888, 7^e série, VIII, p. 1-660).
275. VICKERY (J. W.). — Vegetative reproduction in *Drosera peltata* and *D. auriculata*. *Proc. of the Linnean Soc. of New South Wales*, 1933, LVIII, p. 245-269).
276. VIRCHOW (R.). — Ueber Metaplasie (*Virchow's Arch. f. Path. Anat. u. Phys.*, 1884, XCVII, p. 410-430).
277. VOLKONSKY (M.). — Sur une nouvelle modification de la technique d'Altmann. (*Bull. hist. appl.*, 1928, V, p. 220).
278. VÖCHTING (H.). — Ueber die Regeneration der Marchantieen (*Jahrb. f. Wiss. Bot.*, 1885, XVI, p. 366-414).
279. WALKER (R. I.). — Regeneration in the scale leaf of *Lilium candidum* and *L. longiflorum* (*Am. Journ. of Bot.*, 1940, XXVII, p. 114-117).
280. WARMING (E.). — Ou Rødderner hos *Neottia nidus avis* (*Meddel. Naturhist. floren. Kjöbenhavn*, 1874).
281. — Familien Podostemonaceæ, 1-5 (*Skrifter af Det. Kongelige Danske Vidensk. selskab. Kjöbenhavn*, 1881, 1882, 1888, 1891, 1898).
282. WEIJ (H. G. VAN DER). — Der Mechanismus des Wuchsstofftransportes (*Rec. trav. bot. Néerl.*, 1932, XXIX, p. 379-496).
283. WEISS (P.). — Unabhängigkeit der Extremitätenregeneration vom Skelett (bei *Triton Cristatus*) (*Arch. f. Entw. mech. der Org.*, 1925, CIV, p. 359-394).
284. WENT (F. W.). — Wuchsstoff und Wachstum (*Rev. trav. bot. néerl.*, 1928, XXV, p. 1-116).
285. — Eine botanische Polaritätstheorie (*Jahrb. f. Wiss. Bot.*, 1932, LXXXVI, p. 528-557).
286. WENT (F. W.) et THIMANN (K. V.). — Phytohormones (*The Macmillan Comp. New-York*, 1937).
287. WILSON (C. L.). — Adventitious roots and shoots in an introduced weed (*Bull. Torrey bot. Club.*, 1927, LIV, p. 35-38).

288. WILSON (H. V), et PENNEY (J. T.). — The regeneration of Sponges (*Microciona*) from dissociated cells (*The Journ. of exp. Zool.*, 1930, LVI, p. 73-147).
289. WINGE (O.). — Zytologische Untersuchungen ueber die Naturmaligner tumoren. I: « Crown gall » der Zuckerrüke (*Zeitschr. f. Zellforsch.*, 1927, VI, p. 397).
290. WINKLER (H.). — Ueber regenerative Sprossbildung auf den Blättern von *Torenia asiatica* L. (*Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, 1903, XXI, p. 96-107).
291. WOLFE (F.). — Origin of adventitious roots in *Cotoneaster dammeri* (*Bot. Gaz.*, 1934, XCV, p. 686-694).
292. YARBROUGH (J. A.). — Anatomical and developmental studies of the foliar embryos of *Bryophyllum calycinum* (*Am. Journ. of Bot.*, 1932, XIX, p. 443-445).
293. — The foliar embryos of *Tolmeia Menziesii* (*Am. Journ. of Bot.*, 1936, XXIII, p. 16-20).
294. — Regeneration in the leaf of *Sedum* (*Am. Journ. of Bot.*, 1936, XXIII, p. 303-307).
295. ZIMMERMAN (P. W.), CROCKER (W.) et HITCHCOCK (A. E.). — Initiation and stimulation of roots from exposure of plants to Carbon monoxyde gas (*Cont. f. Boyce Thomps. Inst.*, 1933, V, p. 1-17).
296. — Initiation and stimulation of adventitious roots caused by unsaturated hydrocarbon gases (*Ibid.*, 1933, V, p. 351-369).
-

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE I

CELLULES PÉRICYCLIQUES DE LA TIGE DE TOMATE.

PREMIÈRE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION.

(Regaud-Hématoxyline). ($\times 1200$.)

Fig. 1 et 2. — Deux ensembles montrant la dédifférenciation rapide des chloroplastes au cours des premières mitoses. Dès que l'assise péricyclique est deux fois dédoublée, les cellules résultantes n'ont plus que de très petits plastes (fig. 1, en haut ; fig. 2, en bas). La partie supérieure de la figure 2 montre la structure des cellules péricycliques primitives, avec les chloroplastes discoides. Remarquer l'accroissement du nucléole après les premières mitoses.

Fig. 3 à 13. — *Divers stades de la première phase de dédifférenciation.*

Fig. 3. — Cellule péricyclique normale. Chondriosomes en granules et en courts bâtonnets, chloroplastes discoides. Noyau renfermant un petit nucléole.

Fig. 4. — Premières divisions des chloroplastes, par étranglements suivis d'étirements. Gonflement et début de vésiculation des chondriosomes. Nucléole relativement volumineux.

Fig. 5. — Quatre cellules à des stades plus ou moins précoces de la régression des chloroplastes, qui se divisent activement.

Fig. 6 à 12. — Réduction progressive des chloroplastes à la suite de divisions répétées. Vésiculation des chondriosomes.

Fig. 13. — Première phase presque achevée : les plastes sont à peine plus gros que les mitochondries et continuent à se diviser. Les chondriosomes vésiculisés deviennent rares : la résorption des vésicules est presque complète.

Toutes les figures représentent des lambeaux de pellicules cytoplasmiques pariétales vues de face, dont les coupures simulent des vacuoles. En réalité, toutes ces cellules ne renferment qu'une seule grande vacuole.

PLANCHE II

DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES PÉRICYCLIQUES DE LA TIGE DE TOMATE (2^e PHASE).

(Regaud-Hématoxyline.) $\left\{ \begin{array}{l} \times 1750 \text{ (fig. 1 à 6).} \\ \times 1200 \text{ (fig. 7).} \end{array} \right.$

Fig. 1. — Quelques cellules ayant subi la première phase de dédifférenciation : vacuole centrale unique, mais souvent traversée par des trabécules cytoplasmiques (cellule supérieure droite). Chondriome dévésiculisé d'aspect homogène, pas de plastes distincts. Noyau près de la membrane.

Fig. 2. — Formation de trabécules plus nombreuses au travers de la vacuole. Le noyau devient plus globuleux.

Fig. 3. — Intensification de l'accroissement des trabécules cytoplasmiques ; début de déplacement du noyau vers le centre de la cellule.

Fig. 4. — Premières segmentations de la vacuole par les trabécules cytoplasmiques ; début dans la cellule de droite, stade plus avancé dans celle de gauche.

Fig. 5. — Cellules de la région apicale d'une jeune ébauche : noyau généralement au centre de la cellule. Nombreuses petites vacuoles plus ou moins globuleuses.

Fig. 6. — Cellules du massif méristématique d'une jeune racine. Réduction considérable du volume des vacuoles. Quelques-unes acquièrent des formes étirées. Noyaux relativement très volumi-

R. BUVAT.

EXPLICATION DES PLANCHES

neux, à gros nucléole unique. Chondriome formé de très nombreuses mitochondries et de courts chondriocontes.

Fig. 7. — Reproduction de la file cellulaire de gauche de la figure 8 à la même échelle que les figures de la planche I, montrant la réduction considérable des dimensions des cellules.

PLANCHE III

DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES PÉRICYCLIQUES DE LA TIGE DE TOMATE (CAS DES BOUTURES).
($\times 1\,300$.)

Fig. 1. — Après la première mitose. Chloroplastes amylifères, encore semblables à ceux de la cellule primitive, renfermant plusieurs grains d'amidon et renflés en ovoïdes ou en amandes.

Fig. 2. — Début de régression des plastas ; réduction des grains d'amidon et condensation de la substance plastidiale, qui ne les entoure plus que d'une très fine pellicule.

Fig. 3. — Stade plus avancé de la réduction des grains d'amidon. Certains (à gauche) sont déjà transformés en produits moins réfringents et sont séparés de la substance plastidiale. Les chondriosomes deviennent tous granuleux à la suite d'un léger gonflement.

Fig. 4. — Simplification des plastas par suite des divisions, dont certaines sont en cours (à gauche du noyau). Condensation plus accusée de la substance plastidiale en cupules, en massues ou en granules à la surface des grains. Chondriosomes granuleux.

Fig. 5. — Plastas périnucléaires dont beaucoup ne portent plus qu'un seul grain d'amidon. Certains de ces grains, d'aspect grisâtre, ne sont déjà plus formés que par les produits de digestion de l'amidon. Chondriosomes granuleux.

Fig. 6. — Réduction très avancée de l'amidon. Presque tous les plastas ne portent plus qu'un seul petit grain. Chondriosomes toujours gonflés en granules.

Fig. 7. — Achèvement de la digestion de l'amidon. Seuls quelques grains subsistent encore, limités par une très fine pellicule mitochondriale. Les autres, grisâtres et peu apparents, sont transformés en petites vacuoles transitoires, qui donnent un aspect alvéolaire au cytoplasme. Chondriosomes encore granuleux.

Fig. 8. — Disparition totale de l'amidon. Il ne subsiste plus que les petites vacuoles résultant de la digestion des grains. Réapparition des chondriosomes en courts bâtonnets.

Fig. 9. — Cas de résorption rapide de l'amidon, laissant des chloroplastes encore volumineux, mais qui se divisent activement.

PLANCHE IV

A. — DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES CHLOROPHYLLIENNES DU PARENCHYME LIBÉRIEN DE LA TIGE DE TOMATE.

(Regaud-Hématoxyline.) ($\times 1\,350$.)

Fig. 1. — Cellule chlorophyllienne normale du parenchyme libérien, avec les chloroplastes discoïdes rassemblés autour du noyau.

Fig. 2. — Division synchronique des chloroplastes, au début de la différenciation.

Fig. 3. — Deux cellules résultant d'une mitose longitudinale récente. Aspects fusiformes des chloroplastes qui subissent des divisions répétées. Chondriosomes en voie de division.

Fig. 4. — Cellule résultant d'un cloisonnement transversal. Réduction progressive des plastas. Divisions et raccourcissement des chondriocontes.

Fig. 5 et 6. — Activité de divisions par étranglements et étirements des plastas déjà très petits. Aspects fusiformes caractéristiques. Le chondriome devient granuleux.

Fig. 7. — Fin de la première phase. Les plastas résiduels sont à peine plus volumineux que les mitochondries et continuent à se diviser.

Dans toutes ces figures, les cellules ne contiennent qu'une seule grande vacuole, et nous avons représenté des fragments plus ou moins coupés de pellicules cytoplasmiques pariétales, vues de face.

EXPLICATION DES PLANCHES

B. — CORPS INTRAVACUOLAIRES DANS LES ÉBAUCHES SPONTANÉES DONT LA CROISSANCE EST SUSPENDUE.

($\times 1\,350.$)

- Fig. 8. — Cellule observée vitalement, montrant les globules réfringents pourvus d'une région centrale différenciée, et le noyau cellulaire beaucoup moins réfringent, mais de structure analogue.
- Fig. 9. — Cellule plasmolysée par la solution saturée de bichromate de potassium. Corps intravacuolaire coloré électivement en brun rouge.
- Fig. 10. — Cellule traitée par une solution de bichromate de potassium à 3 p. 100. Coloration élective, en brun rouge, des corps intravacuolaires.
- Fig. 11. — Coloration vitale, au rouge neutre, des vacuoles renfermant des corps intravacuolaires, qui prennent une teinte très vive. Remarquer le noyau non coloré et son nucléole.

PLANCHE V

A. — DÉDIFFÉRENCIATION DES « CELLULES-COMPAGNES » DU LIBER DE LA TIGE DE TOMATE. (Regaud-Hématoxyline.) ($\times 1\,650.$)

- Fig. 1. — Cellule d'un jeune tube criblé, montrant le noyau fusiforme, déchromatinisé, dans la région médiane, et les nombreux chondriosomes fortement vésiculisés. La paroi inférieure est déjà criblée.
- Fig. 2. — Cellule-compagne normale : appareil vacuolaire divisé, petit noyau central, et surtout chondriosomes exclusivement granuleux et de forte taille : aspect gonflé.
- Fig. 3. — Début de vésiculisation des chondriosomes des cellules-compagnes.
- Fig. 4. — Recloisonnement des cellules de très jeunes tubes criblés, avec amplification des vésicules mitochondriales. Certaines (dans les petites cellules inférieures) commencent même à se réduire, ainsi que les vacuoles, dont quelques-unes renferment un contenu fortement colorable (cellule moyenne à gauche).
- Fig. 5 et 6. — Début de transformation des vésicules en longs chondriocontes. Segmentation et réduction progressive des vacuoles.
- Fig. 7 et 8. — Réduction du volume des vacuoles ; fin de transformation des vésicules mitochondriales en longs chondriocontes flexueux.
- Fig. 9. — File de petites cellules d'aspect méristématique, issues de la différenciation des cellules-compagnes et qui contribueront à édifier les raccords des tissus conducteurs de l'ébauche avec ceux de la tige. Disparition des vésicules et raccourcissement des chondriocontes qui en résultent. Réduction considérable du volume des vacuoles.

B. — CORPS INTRAVACUOLAIRES DANS LES ÉBAUCHES SPONTANÉES DONT LA CROISSANCE EST SUSPENDUE.

(Regaud-Hématoxyline.) ($\times 1\,650.$)

- Fig. 10. — Cellules du massif des initiales méristématiques, montrant l'allongement inaccoutumé des chondriosomes et les précipités intravacuolaires, en ménisques ou en sphérules, rappelant par leur aspect des « dictyosomes ».
- Fig. 11. — Cellules de la future zone corticale de l'ébauche, montrant les corps intravacuolaires diversement déformés sous l'action du fixateur.

PLANCHE VI

DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES ENDODERMiques DE LA TIGE DE TOMATE. (Regaud-Hématoxyline.) ($\times 1\,250.$)

- Fig. 1. — Cellule endodermique normale. Noyau relativement très petit. Chloroplastes très volumineux, chargés de gros grains d'amidon. Chondriome formé de mitochondries et de courts bâtonnets.
- Fig. 2. — Après les premières mitoses. Cas où la régression de l'amidon est rapide. Les grains se réduisent en s'aplatissant, tandis que les chloroplastes commencent à se diviser.

EXPLICATION DES PLANCHES

- Fig. 3. — Simplification des plastes : par suite des bipartitions, chacun ne porte plus qu'un nombre restreint de grains. La substance plastidiale se rassemble à la surface en une masse fusiforme ou piriforme. Les chondriosomes deviennent granuleux.
- Fig. 4. — Réduction plus avancée des grains d'amidon ; localisation de la substance plastidiale. Gonflement de certains chondriosomes.
- Fig. 5. — Fin de la résorption de l'amidon, les plastes deviennent homogènes, ils sont globuleux, fusiformes, ou en petites massues. Beaucoup de chondriosomes se sont vésiculisés. Dans la région inférieure, à gauche, se sont constituées des petites cellules qui s'incorporent au massif apical de l'ébauche ; les vacuoles sont déjà segmentées et les noyaux commencent à émigrer vers le centre des cellules.
- Fig. 6. — Divisions actives des chloroplastes après la résorption de l'amidon.
- Fig. 7 et 8. — Réduction progressive de la taille des plastes à la suite de divisions répétées. Apogée de la vésiculisation des chondriosomes.
- Fig. 9. — Achèvement de la régression des plastes, qui ne sont plus que légèrement plus gros que les chondriosomes. Ces derniers sont presque entièrement dévésiculisés.

PLANCHE VII

DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES ÉPIDERMiques DE LIMBES FOLIAIRES DE *Brimeura Amethystina* L. (DÉBUT).

($\times 1\,300$.)

- Fig. 1. — Fragment de cellule épidermique normale, représentant à peu près le tiers de sa longueur. On a choisi une cellule où le chondriome est particulièrement fin et allongé. Remarquer certains chondriocontes très ramifiés. Noyau lenticulaire, appliqué à la paroi interne. Cuticule à gauche. (REGAUD-Hématoxyline.)
- Fig. 2. — Cellule beaucoup plus courte, résultant des premières mitoses des longues cellules épidermiques. Les chondriosomes sont raccourcis et épaissis ; leurs formes sont simplifiées. Nombreux chondriosomes en voie de division par étranglements. (REGAUD-Hématoxyline.)
- Fig. 3 et 4. — Cellules plus courtes résultant de mitoses répétées. Le chondriome se divise activement ; certains segments restent bout à bout pendant un moment (fig. 4). (REGAUD-Hématoxyline.)
- Fig. 5. — L'assise épidermique est déjà dédoublée. Le chondriome se compose essentiellement de mitochondries et de courts bâtonnets. La file cellulaire de droite montre l'épaississement de la couche pariétale de cytoplasme. A gauche, on constate que les noyaux ont pris une position centrale et sont devenus plus gros et plus sphériques ; la vacuole initiale est morcelée en plusieurs vacuoles plus petites. (HELLY-Hématoxyline.)

PLANCHE VIII

DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES ÉPIDERMiques DES LIMBES FOLIAIRES DE *Brimeura amethystina* (FIN).

($\times 2\,000$.)

- Fig. 1. — Cellules du jeune méristème à peine constitué. Noyaux volumineux, cytoplasme abondant et vacuoles réduites, devenant filamenteuses. Mitochondries plus abondantes, bâtonnets moins nombreux. Début de différenciation d'amyloplast. (REGAUD-Hématoxyline.)
- Fig. 2. — Cellules de méristème un peu plus avancé : accroissement du nombre des mitochondries aux dépens des courts chondriocontes. Développement des amyloplast. (REGAUD-Hématoxyline.)
- Fig. 3. — Méristème d'une très jeune bulbille. Noyaux subsphériques volumineux, vacuoles réduites, certaines contenant des précipités sidérophiles. Chondriosomes constitués en majorité de mitochondries. Quelques bâtonnets très courts subsistent. Gros amyloplast colorés selon la technique de GUILLIERMOND.
- Fig. 4. — Cellule de réserves d'une jeune bulbille. Chondriosomes formés surtout de mitochondries. Amyloplast volumineux dont les grains sont entourés d'une fine pellicule plastidiale. (MEVES-Hématoxyline.)

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE IX

DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES DU MÉSOPHYLLE DE *Brimeura amethystina* (DÉBUT).
(Regaud-Hématoxyline.) ($\times 1\ 000$.)

- Fig. 1. — Cellule normale des régions moyennes du mésophylle ; cytoplasme pariétal, grande vacuole, chondriosomes formés de mitochondries et de chondriocontes. Chloroplastes lenticulaires contenant des grains d'amidon ; certains sont caudés.
- Fig. 2, 3 et 4. — Début de l'amylogenèse ; les grains d'amidon font saillie de plus en plus à la surface des plastes. Certains plastes deviennent peu colorables, partiellement (fig. 2) ou en totalité (fig. 3). Phénomènes de condensation de la substance sidérophile, soit autour des grains d'amidon (début, fig. 2, achevé en fig. 4), soit à l'intérieur de plastes qui ne forment pas d'amidon (fig. 4). Formation de chondriocontes allongés.
- Fig. 5. — Fin de disparition de la substance peu colorable des plastes et simplification de ceux-ci. (Regaud-Hématoxyline.)
- Fig. 6. — Aspect des plastes précédents vus de profil ; en haut à gauche : deux plastes chromophobes, sans amidon.
- Fig. 7 et 8. — Les chloroplastes achèvent de se transformer en amyloplastes de plus en plus simples et volumineux. Début de segmentation des chondriosomes.

PLANCHE X

DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES DU MÉSOPHYLLE DE *Brimeura amethystina* (suite).
($\times 1\ 500$.)

- Fig. 1, 2 et 3. — Cellules du mésophylle à la fin de la phase amylogène, au moment où la prolifération va s'intensifier. Amyloplastes volumineux, simples pour la plupart, formés de grains toujours entourés d'une fine pellicule plastidiale. Un noyau en prophase dans la figure 1. (MEVES-Hématoxyline.)
- Fig. 4, 5 et 6. — Début de régression des amyloplastes. La substance plastidiale redevient plus apparente et se polarise, tandis que la taille des grains diminue. Certains grains montrent cette substance vue de face, de sorte qu'elle semble incluse dans une vacuole (fig. 4). L'exploration en profondeur de la préparation montre cependant bien que les granulations chromophiles sont contre la surface du grain. Les chondriosomes se segmentent lentement. (REGAUD-Hématoxyline.)

PLANCHE XI

DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES DU MÉSOPHYLLE DE *Brimeura amethystina* (suite).
(Regaud-Hématoxyline.) ($\times 1\ 500$.)

- Fig. 1, 2 et 3. — Suite de la régression des amyloplastes. Diminution de taille, polarisation de la substance plastidiale en cupules (fig. 1 et 2), puis en grains et en bâtonnets (fig. 3). Ces derniers s'allongent, s'amincissent (fig. 3) et prennent la forme de chondriocontes. Le cytoplasme devient plus abondant ; de grosses trabécules se tendent à travers la vacuole, et le noyau émigre vers le centre de la cellule (fig. 1 et 2). La figure 1 montre la floculation de colloïdes vacuolaires en précipités peu colorables.
- Fig. 4 et 5. — Après un début de prolifération active : cellules d'ébauches méristématiques. Cytoplasme abondant, noyaux volumineux, nombreuses petites vacuoles, certaines deviennent filamenteuses (fig. 5, à gauche). Ça et là, quelques amyloplastes « retardataires ». La plupart sont différenciés et se confondent avec les chondriosomes (fig. 4), mais certains se redifférencient déjà en très petits amyloplastes (fig. 5).
- Fig. 6. — Cellules du méristème d'une jeune racine, montrant les noyaux volumineux et les vacuoles réduites, à contenu concentré, précipité en sphérules très sidérophiles.
- Fig. 7. — Cellule chlorophyllienne se transformant en éléments vasculaires. Pas d'amylogenèse ; les chloroplastes prennent des formes de têtards, puis se font de plus en plus grêles et redeviennent semblables à des chondriosomes.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE XII

DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES DU MÉSOPHYLLE DE *Brimeura amethystina* (fin).

($\times 2\,000$.)

PRÉPARATIONS OBTENUES PAR LA MÉTHODE DE GUILLIERMOND.

(Regaud — Hématoxyline — Solution iodo-iodurée concentrée.)

Fig. 1. — Digestion de l'amidon, au début de la phase de dédifférenciation. Les restes amylacés des grains sont colorés en brun, les corps plastidiaux en noir, les enclaves formées par les produits d'hydrolyse restent incolores.

Fig. 2. — Stade plus avancé.

Fig. 3 et 4. — Disparition de l'amidon dans les enclaves formées par ses produits d'hydrolyse, qui conservent quelque temps la forme des grains primitifs.

Fig. 5. — Quatre cellules d'un jeune méristème de racine : noyaux volumineux, l'un d'eux en métaphase. Vacuoles nombreuses et petites, passant à la forme filamenteuse.

La cellule supérieure, à droite, présente des restes de grains d'amidon en voie d'hydrolyse, de même la cellule inférieure. Isolement d'une partie sidérophile en croissant ou en filament et d'une sorte de petite vacuole contenant les produits d'hydrolyse. Séparation achevée dans la cellule médiane, d'où les nombreuses petites vacuoles au voisinage desquelles se trouvent des plastas dédifférenciés en forme de chondriocontes et de mitochondries, de taille légèrement supérieure à celle des chondriosomes.

Fig. 6. — Extrémité d'une ébauche méristématique racinaire. On retrouve les noyaux volumineux, les vacuoles petites, devenant filamenteuses, le cytoplasme abondant et les grains d'amidon encore incomplètement hydrolysés. Les chondriosomes et les plastas se confondent et deviennent très fins.

PLANCHE XIII

CAROTTE. PREMIÈRE PHASE DE LA CULTURE.

($\times 1\,500$.)

Fig. 1. — Cellule du parenchyme libérien normal, montrant les chromoplastes plus ou moins distincts les uns des autres, chargés de grains d'amidon composés et de cristaux de carotène, l'ensemble compliquant beaucoup leur structure. En haut et en bas de la cellule, des plastas montrent le cristal vu de profil, enrobé dans la substance plastidiale, mais permettant de se rendre compte de sa forme lamellaire. (REGAUD — Hématoxyline.)

Fig. 2. — Cellule du parenchyme libérien après vingt-huit jours de culture, montrant les figures qui résultent de l'hydrolyse de l'amidon encore inachevée (phase préliminaire). La couche supérieure de cytoplasme pariétal est vue de face ; la vacuole se distingue dessous, limitée par la fine pellicule cytoplasmique vue de profil par transparence. On remarque en *a* les formes rameuses compliquées des plastas qui ont abandonné leur cristallite de carotène pendant la résorption de l'amidon. Certains montrent encore des vésicules très peu apparentes correspondant aux anciens grains. D'autres plastas ont condensé leur substance vivante autour des cristallites qu'ils entourent partiellement (en *b*) ou complètement (en *c*). En *d* est figuré un cristallite abandonné dans le cytoplasme. (REGAUD — Hématoxyline.)

Fig. 3. — Cellule analogue à la précédente, mais où la phase d'amylolyse est à peu près terminée ; la couche supérieure de cytoplasme pariétal est vue de face et la vacuole comme ci-dessus. Simplification des plastas ramifiés par rupture des branches : les éléments qui en résultent se confondent avec les chondriosomes ; ils sont pratiquement dédifférenciés. Nombreux chromoplastes dont la substance élaboratrice n'entoure plus complètement le cristallite, mais s'est polarisée à sa surface (en *b*). Certains ont abandonné dans le cytoplasme des masses plastidiales beaucoup plus volumineuses que les chondriosomes. D'autres chromoplastes conservent le cristal entièrement inclus à leur intérieur ; on les reconnaît à leur coloration plus accusée que celle des parties cristallines découvertes (l'un d'eux en *c*). (REGAUD — Hématoxyline.)

Fig. 4. — Divers types de chromoplastes à la fin de l'amylolyse. Les figures ramifiées du type *a* de la figure 2 sont divisées en longs chondriocontes. Les lettres *b*, *c* et *d* correspondent aux mêmes types que précédemment. Remarquer des masses plastidiales ramassées sur les cristaux (*b*, en bas) ou autour d'eux (*c*, au centre). Certaines semblent détacher des fragments dans le cytoplasme (*c*, en haut). (MEVES — Fuchsine.) (Cytoplasme vu de face. Vacuole comme sur fig. 2.)

EXPLICATION DES PLANCHES

Fig. 5. — *Id.* Remarquer un plaste en haut à gauche et trois en bas, où le cristal est partiellement découvert par la condensation de la substance vivante. A droite du noyau, trois plastes où le cristal reste inclus dans la pellicule plastidiale. Les plastes *a* et *b* sont homologues des plastes marqués de même dans les figures précédentes. Cytoplasme pariétal vu de face. (MEVES-FUCHSINE).

Fig. 6. — Cellule où se réunissent les diverses modalités de dédifférenciation des chromoplastes :
1. Résolution en longs chondriocontes en *a*, de même au-dessous et à gauche de la cellule. Certains de ces chondriocontes sont déjà dispersés dans le cytoplasme.

2. Condensation de la matière plastidiale en éléments discontinus à la surface des cristallites en *b* et au-dessus du noyau.

3. Chromoplastes conservant le cristal entièrement à leur intérieur, en *c*.

4. Cristallites abandonnés dans le cytoplasme, en *d*.

Couche cytoplasmique pariétale vue de face. (MEVES-FUCHSINE.)

Fig. 7 à 10. — Constitution des cellules du parenchyme libérien à la fin de la première phase (amylolyse). Pellicules cytoplasmiques pariétales supérieures plus ou moins entières, vues de face, le cytoplasme latéral visible par endroits, de profil.

1. Certains chromoplastes (type *a*) sont dédifférenciés en longs chondriocontes.

2. D'autres (type *b*) ont leur substance ramassée en éléments plus ou moins discontinus à la surface des cristallites : deux plastes à gauche du noyau de la figure 7, tous les chromoplastes de la figure 8, en bas à gauche du noyau de la figure 9, deux plastes de la cellule fragmentaire à droite de la figure 10, et la plupart des plastes de la cellule inférieure.

3. Enfin, quelques cristallites sont complètement inclus dans les plastes : figure 7, en bas à droite du noyau ; figure 9, au-dessus du noyau ; en haut de la figure 10.

4. Des cristaux de carotène sont abandonnés dans le cytoplasme, en *d*.

5. Grande vacuole inchangée. (MEVES-FUCHSINE.)

PLANCHE XIV

CAROTTE. — CHROMOPLASTES AU COURS DE LA PREMIÈRE PHASE DE LA CULTURE.

(Regaud-Hématoxyline.) ($\times 1\ 500$.)

Ligne A. — *Chromoplastes normaux.*

Vus de profil dans les figures 1 à 5, de face figures 6 et 8, obliquement en 7.

Ligne B. — *Résorption de l'amidon.*

Fig. 1 à 6. — Condensation de la substance plastidiale qui décoiffe les grains.

Fig. 7. — La condensation résout les plastes en éléments discontinus en forme de chondriosomes.

Fig. 8. — Condensation en formes rameuses à la surface d'un cristal de carotène qui est sur le point d'être libéré dans le cytoplasme.

Ligne C. — *Après l'amylolyse.*

Résolution des plastes en éléments ramifiés continus (fig. 1, 3, 6 et 7) ou discontinus (fig. 2, 4, 5 et 8). Certains ont encore leur cristal (fig. 4) et d'autres en montrent encore l'empreinte (fig. 2, 6 et 7). Remarquer les régions très fines qui relient divers segments (fig. 2, 4, 5, 7 et 8).

Ligne D. — *Id.*

Formes laissant deviner une séparation récente du cristallite (fig. 11, 12 et 13). Condensation de la substance plastidiale en éléments plus ou moins discontinus à la surface des cristaux de carotène (fig. 1 à 10, 14 et 15).

PLANCHE XIV bis.

CAROTTE. — CHROMOPLASTES AU COURS DE LA PREMIÈRE PHASE DE LA CULTURE.

(Meves-Fuchsine.) ($\times 1\ 500$.)

Ligne A. — Divers aspects de condensation de la substance plastidiale à la surface des cristallites de carotène, aboutissant à la formation de masses globuleuses de dimensions très supérieures à celles des chondriosomes. Quelques cas de condensation polarisée (fig. 1 à 3, 5, 7 à 9, 11 et 12).

EXPLICATION DES PLANCHES

Ligne B et ligne C (fig. 13 et 14). — Segmentation des amas de substance plastidiale (fig. 2, 3, 4, 6, 10, 11 et 12) et détachement consécutif de portions de cette substance, libérées dans le cytoplasme (fig. 6 à 10), d'où appauvrissement des chromoplastes en matière vivante (fig. 1, 5, 8, 9...) et libération progressive des cristallites (fig. 5 à 9).

Ligne C, fig. 1 à 12. — Chromoplastes dont les cristallites restent entièrement inclus dans la substance vivante.

Certains ont acquis des prolongements filiformes à la suite de l'amyolyse (fig. 3, 6, 7 et 9).

Chez d'autres, il se produit une condensation polarisée de substance plastidiale (fig. 1, 2, 4, 7, 9 à 12).

Le plaste 11, vu de profil, montre l'épaississement de cette substance aux deux extrémités du cristal.

Le plaste 12 montre une condensation très accusée, qui peut aller jusqu'à découvrir partiellement le cristal.

PLANCHE XV

CAROTTE. — LES PREMIÈRES MITOSES DES CELLULES DU PARENCHYME LIBÉRIEN.

(Helly-Hématoxyline.) ($\times 800$.)

- Fig. 1. — Anaphase. Chromosomes très petits, arqués ; figure achromatique bien distincte du cytoplasme.
- Fig. 2. — Début de télophase. Aplatissement de la figure achromatique, tassement polaire des chromosomes. Début de formation de la plaque cellulaire. Remarquer sa petitesse par rapport à la surface de section de la cellule.
- Fig. 3. — Fin de télophase. Aplatissement considérable de la figure achromatique ; la plaque cellulaire touche une des parois, mais elle est encore très éloignée de la paroi d'en face. Les chromatines se reconstituent dans un espace hyalin différencié dans le fuseau achromatique.
- Fig. 4. — Les noyaux-fils sont reconstitués et ont encore deux nucléoles. La nouvelle membrane commence à se différencier au contact de l'une des cloisons primitives.
- Fig. 5. — Étalement de la figure achromatique, devenue phragmoplaste, qui reste épaisse à son bord libre et continue à élaborer la plaque cellulaire.
- Fig. 6. — Stade plus avancé. Les deux nucléoles de chacun des noyaux-fils sont fusionnés en un seul ; l'étalement du phragmoplaste se poursuit, mais il reste épais et strié sur son bord libre, tandis qu'il s'amincit en arrière de ce bord et n'y présente plus de striation.
- Fig. 7. — Stade plus avancé. Remarquer les stries du bourrelet. La membrane se différencie entre les noyaux-fils. Une segmentation précédente avait isolé une petite cellule à la partie inférieure.
- Fig. 8. — Le phragmoplaste est presque arrivé au bord opposé à son point de départ. Remarquer son amincissement. La différenciation de la membrane se poursuit dans les régions les plus anciennes de la plaque cellulaire.
- Fig. 9. — Formation d'un phragmoplaste composé. Le premier est bien visible de profil ; de chaque côté du bourrelet strié se trouvent deux noyaux issus d'une même division. On voit bien, à la partie inférieure, qu'ils sont séparés par un phragmoplaste vu de face et relié au précédent.
- Fig. 10. — Épuisement du phragmoplaste avant la fin du cloisonnement. La nouvelle membrane est différenciée jusqu'au bout de l'ancien phragmoplaste, mais elle est incomplète. Deux divisions inégales ont précédé, formant deux petites cellules en calotte à la partie supérieure.
- Fig. 11. — Cellules binucléées résultant de cloisonnements incomplets, suivis probablement de déplacements des noyaux-fils, qui passent du même côté de chaque membrane inachevée.
- Fig. 12. — Divisions conjuguées, parfaitement synchroniques, des deux noyaux d'une cellule binucléée par suite de formation incomplète de membrane.

PLANCHE XVI

CAROTTE. — PRÉPARATIONS OBTENUES APRÈS FIXATION AU MÉLANGE DE MEVES
ET COLORATION A LA FUCHSINE D'ALTMANN.

($\times 1\,200$.)

- Fig. 1 et 2. — Cellules à la fin de la première phase. Mise au point sur les pellicules cytoplasmiques supérieures, plus ou moins déchirées par le rasoir, montrant : les longs chondriocentes résultant des premiers chromoplastes différenciés ; les chromoplastes des divers types décrits précédem-

EXPLICATION DES PLANCHES

ment (Pl. XIII.) ; les granulations liposolubles, colorées en brun par l'acide osmique ; une grande vacuole centrale.

Fig. 3. — *Résorption des cristallites de carotène à l'intérieur des plastes.* Ceux-ci perdent leurs formes anguleuses et commencent à se segmenter.

Fig. 4. — *Id.* Début de disparition des formes cristallines.

Fig. 5. — *Id.* Différents stades, dans la même cellule. A droite, contre le noyau, un chromoplaste encore très anguleux. A gauche, des plastes ayant résorbé le cristal et en voie de segmentation. Remarquer la richesse relative en granulations liposolubles.

Fig. 6. — Petits cristaux de carotène, entourés d'une fine pellicule plastidiale et dont les angles s'émoussent.

Fig. 7, 8 et 9. — Fin de dédifférenciation des chromoplastes. Les masses plastidiales ne présentent plus de formes cristallines, et il est impossible de dire par quel processus s'est effectué le début de la dédifférenciation. Cependant les cellules supérieures des figures 7 et 9 contiennent des cristaux abandonnés dans le cytoplasme, montrant que certains au moins des chromoplastes se sont dédifférenciés en se libérant du cristal de carotène.

Les chondriosomes se segmentent en éléments de plus en plus courts.

Les cellules contiennent toujours des granulations liposolubles assez importantes.

Dans toutes ces figures, la mise au point a été faite sur la pellicule cytoplasmique supérieure des cellules, plus ou moins déchirée. Toutes ces cellules contiennent toujours une grande vacuole centrale.

PLANCHE XVII

CAROTTE. — OBSERVATIONS SUR LE VIVANT.

($\times 1\ 000$.)

Fig. 1. — Cellule du parenchyme libérien après la perte de l'amidon. Diverses formes de cristallites de carotène ; substance plastidiale invisible (Mise au point sur la pellicule cytoplasmique supérieure).

Fig. 2. — Cellules résultant des premiers cloisonnements des cellules parenchymateuses initiales. Chromoplastes de dimensions réduites, aux formes moins sinueuses. Remarquer les granulations liposolubles très réfringentes.

Fig. 3. — Une grande cellule de parenchyme, recloisonnée plusieurs fois. La cellule centrale montre des plastes encore anguleux, mais dépigmentés. A droite, une cellule montre des chromoplastes en voie de décoloration et perdant en même temps leurs formes cristallines. Certains sont déjà complètement dépigmentés et ont leurs angles arrondis. La cellule inférieure gauche est en voie de dégénérescence. Un groupe de chromoplastes s'est effacé dans des figures d'aspect myélinique, très réfringentes et où le carotène semble être passé en solution.

Fig. 4. — Après les premiers cloisonnements des cellules parenchymateuses. La taille des chromoplastes a beaucoup diminué et les angles des cristaux s'arrondissent ; ils prennent l'aspect de plastes non cristallins. Certains sont dépigmentés.

Fig. 5. — Cellule du tissu néoplasique en voie de formation. Plastes dépigmentés réfringents. Un chromoplaste encore coloré porte une granulation liposoluble, d'origine cytoplasmique ; une partie du carotène est passée en solution dans ce lipidosome.

Fig. 6. — *Id.* Figures de dépigmentation des chromoplastes.

Fig. 7. — *Id.* Stade de dédifférenciation plus avancé. Disparition des formes cristallines des chromoplastes et dépigmentation. Remarquer les granulations liposolubles, réfringentes et incolores et les chondriosomes, flexueux et très peu réfringents.

Fig. 8. — *Id.* Stade plus avancé : fin de la dépigmentation et figures de divisions des plastes. Quelques chondriocotes peu réfringents.

Fig. 9. — Passages des chromoplastes à la forme de chondriocotes. Le carotène est dissous dans la substance plastidiale (cellules inférieures), ou dans des inclusions lipidiques (plaste supérieur) ; la coloration est discontinue dans ce dernier cas. Figures de dépigmentation progressive. Quelques lipidosomes réfringents et incolores.

Fig. 10. — Fin de la résorption du carotène à l'intérieur des plastes. Aspect réfringent des plastes après la dépigmentation.

Fig. 11. — Cellule du tissu néoplasique, au début de sa formation, traitée par une solution iodo-iodurée concentrée qui colore le carotène en violet foncé. Disparition des cristaux et des formes anguleuses des plastes. Les régions violacées montrent les endroits où subsiste le carotène, qui se raréfie progressivement.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE XVIII

CAROTTE. (REGAUD-HÉMATOXYLINE.) DERNIÈRE ÉTAPE DE LA DÉDIFFÉRENCIATION.

Fig. 1 à 5 : $\times 1\ 500$.

Fig. 6 : $\times 2\ 400$.

Fig. 1. — Fragment du tissu néoplasique à la fin de son évolution, dans une région où les cellules sont disposées sans ordre. On remarque les épaississements lignifiés réticulés de certaines d'entre elles. Le chondriome forme un ensemble homogène, où l'on ne distingue plus les plastes. Il comprend surtout des mitochondries et de courts bâtonnets. Ça et là quelques chondriocontes plus longs subsistent encore. Certaines cellules sont riches en granulations liposolubles. (Mise au point sur la couche cytoplasmique pariétale.)

Fig. 2. — Fragment de zone génératrice formée dans le tissu néoplasique et dérivant par conséquent de cellules parenchymateuses. Remarquer qu'elle a pris naissance au contact de cellules à cadres ligneux réticulés. Noyaux généralement lenticulaires. Chondriome homogène, à l'état très divisé en éléments granuleux ou très courts. Grande vacuole, parfois traversée par des trabécules, et cytoplasme peu abondant en pellicule pariétale. Structure identique dans le cambium normal des tubercules.

Fig. 3, 4 et 5. — *Trois stades de dédifférenciation des cellules néoplasiques.*

Fig. 3. — Début de cette dernière étape : premiers cloisonnements. La pellicule cytoplasmique pariétale commence à s'épaissir. Les noyaux sont moins aplatis que dans les cellules néoplasiques banales. Le chondriome se divise encore.

Fig. 4. — La prolifération s'est accusée, le nombre des noyaux contenus dans un même volume a triplé environ, mais les jeunes membranes de séparation des nouvelles cellules sont difficiles à voir sur ces préparations nécessairement très fines ($2\ \mu$). On constate pourtant que le cytoplasme est beaucoup plus abondant et les vacuoles beaucoup plus petites. Les noyaux deviennent nettement plus épais. Le chondriome s'est divisé en éléments plus fins et plus nombreux.

Fig. 5. — Les noyaux se sont encore multipliés. Ils sont devenus à peu près sphériques. Le cytoplasme est dense et abondant et a segmenté les vacuoles, dont les dimensions ont considérablement diminué.

Fig. 6. — Cellules au terme de leur dédifférenciation, faisant déjà partie d'un tout jeune méristème radiculaire. Noyaux sphériques volumineux, situés au centre des cellules. Cytoplasme dense et abondant, ne contenant plus que des vacuoles filamenteuses, ramifiées, caractéristiques des méristèmes. Certaines contiennent des précipités globuleux très sidérophiles. Chondriome homogène, formé de nombreux éléments très fins, mitochondries et courts bâtonnets.

PLANCHE XIX

TUBERCULE NORMAL DE CHICORÉE A CAFÉ.

($\times 1\ 600$.)

Toutes les cellules de cette planche renferment une grande vacuole unique ; on a représenté des exemples montrant plus ou moins complètement la couche pariétale supérieure de cytoplasme, vue de face.

Fig. 1 à 8. — *Méthode de PARAT.*

Fig. 1. — Cellule du parenchyme vasculaire interne. Chondriocontes généralement très longs et plus ou moins « aviculés ». Plastres peu colorables, dont le rôle élaborateur n'a pas été déterminé.

Fig. 2. — Autre cellule du parenchyme vasculaire interne. Chondriocontes plus courts, de forme plus régulière. Quelques plastres parfois vésiculisés autour du noyau.

Fig. 3. — Cellules du parenchyme ligneux moyen. Le chondriome est formé de mitochondries assez nombreuses, de chondriocontes peu allongés et de plastres peu évolués. Remarquer la forme lenticulaire des noyaux.

Fig. 4. — Deux cellules du parenchyme ligneux externe, c'est-à-dire du voisinage de la zone cambiale. Chondriome formé essentiellement de mitochondries granuleuses relativement grosses, de courts bâtonnets et de plastres dont beaucoup sont colorés de manière hétérogène et paraissent vésiculeux.

Fig. 5. — Cellules de la zone cambiale. Certains noyaux vus de face, d'autres vus de profil, montrent leur forme d'ellipsoïdes aplatis. Le chondriome comprend des mitochondries, de courts bâtonnets et des plastres plus ou moins vésiculeux.

EXPLICATION DES PLANCHES

Fig. 6. — Cellules entourant les pseudo-laticifères. Le chondriome ordinaire est presque entièrement à l'état de mitochondries granuleuses. On distingue des plastes peu colorés et des précipités intracytoplasmiques très chromophiles dans la cellule supérieure.

Fig. 7. — Cellule du parenchyme libérien interne. Le chondriome ordinaire est constitué de mitochondries et de courts bâtonnets. Les plastes sont nombreux et beaucoup ont un aspect vésiculeux.

Fig. 8. — Cellule du parenchyme libérien externe. Nous retrouvons de longs chondriocontes, souvent porteurs de petits renflements successifs, comme dans les cellules du parenchyme vasculaire interne. Le cytoplasme renferme toujours des plastes vésiculeux peu colorables.

Fig. 9 et 10. — REGAUD-HÉMATOXYLINE.

Cellules du parenchyme libérien moyen, montrant particulièrement l'aspect des plastes qui n'étaient pas colorés d'une manière aussi contrastée par la méthode de PARAT. On voit que la plupart renferment un produit qui leur confère un aspect vésiculeux.

PLANCHE XX

TUBERCULE DE CHICORÉE A CAFÉ.

DÉDIFFÉRENCIATION DES PLASTES.

(Regaud-Hématoxyline.) ($\times 1\ 600.$)

Fig. 1. — Cellule de parenchyme libérien d'un échantillon fixé neuf jours après la mise en culture. Début de régression des plastas. La substance mitochondriale se ramasse à la surface des vésicules qui représentent peut-être un produit d'élaboration non identifié.

Fig. 2 et 3. — Cellules de parenchyme libérien situées au voisinage d'une ébauche de zone génératrice. La plupart des vésicules des plastas se sont beaucoup réduites. La substance mitochondriale se condense, forme souvent des concentrations en certains points de la surface des vésicules et tend à revenir à des formes allongées en chondriocontes. Chez certains plastas (fig. 3), la substance mitochondriale n'entoure plus complètement la masse centrale, qui sera libérée dans le cytoplasme (fixation neuf jours après le prélèvement).

Fig. 4. — Cellule de parenchyme libérien, voisine d'une ébauche de zone génératrice néoformée. Les plastas sont à peu près dépourvus de la substance peu colorable que nous avons considérée comme un produit de leur élaboration. Elle a été soit résorbée à leur intérieur, soit rejetée dans le cytoplasme, où elle se déforme et disparaît : la région moyenne de la cellule en montre des traces en voie de résorption dans le cytoplasme. Plus bas, l'un de ces plastas a pris la forme d'un chondrioconte flexueux, mais il porte encore une très petite vésicule (fixation neuf jours après le prélèvement).

Fig. 5. — Cellule de parenchyme libérien voisine d'une zone génératrice néoformée. Fin de dédifférenciation des plastas, dont quelques-uns se distinguent encore des chondriosomes par leur taille plus grande. On trouve dans le cytoplasme un reste de produits d'élaboration peu colorable, en voie de disparition. Les chondriosomes se segmentent déjà très activement. Dans toutes ces figures, on a représenté la couche supérieure de cytoplasme pariétal des cellules ; la région centrale reste toujours occupée par une seule et grande vacuole morphologiquement inchangée.

PLANCHE XXI

TUBERCULE DE CHICORÉE A CAFÉ.

FIN DE LA PREMIÈRE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION : MORCELLEMENT DES CHONDRIOSOMES.

(Helly-Parat et Regaud-Hématoxyline.) ($\times 1\ 800.$)

Fig. 1, 2 et 3. — HELLY-PARAT, puis coloration à l'hématoxyline.

Fig. 1. — Deux cellules de parenchyme libérien du voisinage d'une ébauche de bourgeon. Les plastas sont dédifférenciés, et l'on n'en distingue plus que les restes de leurs sécrétions abandonnées dans le cytoplasme. Le chondriome est formé de mitochondries et de chondriocontes dont certains sont longs et flexueux. Beaucoup de chondriosomes se segmentent.

Fig. 2. — Cellule de parenchyme libérien de la même coupe, mais plus voisine de l'ébauche méristématique de bourgeon. La dédifférenciation des plastas est à peu près achevée et les chondriosomes

EXPLICATION DES PLANCHES

sont déjà très divisés : les mitochondries sont devenues prédominantes et les chondriocotes sont beaucoup plus courts que dans la figure 1.

Fig. 3. — Cellule de parenchyme libérien d'une culture jeune, choisie dans une région où se manifestent des signes de formation de bourgeons (mitoses, formation de cellules plus petites). Le chondriome s'est résolu en granulations constituant des mitochondries de dimensions relativement grandes.

Fig. 4, 5, 6 et 7. — REGAUD-Hématoxyline.

Fig. 4. — Cellule de la région périphérique d'une très jeune ébauche de bourgeon qui prend naissance dans le parenchyme libérien externe. Immédiatement après la régression des plastas, la cellule renferme encore de longs chondriocotes.

Fig. 5. — Cellule un peu moins périphérique de la même ébauche, montrant le début de la segmentation des chondriosomes.

Fig. 6. — Cellule de la jeune ébauche où le chondriome, en voie de segmentation active, ne comporte déjà plus que des éléments très courts. La vacuole commence à être traversée par des trabécules nombreuses et par des lames de cytoplasme qui la diviseront à son tour. Le noyau devient sphérique et quitte la paroi où il était appliqué.

Fig. 7. — Cellule de la région la plus évoluée de la jeune ébauche. Le chondriome est presque entièrement à l'état de mitochondries granuleuses. La vacuole primitive est divisée en plusieurs vacuoles, et le noyau, devenu sphérique, a émigré dans la région centrale de la cellule.

PLANCHE XXII

TUBERCULE DE CHICORÉE A CAFÉ.

FIN DE LA PREMIÈRE PHASE ET SECONDE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION.

(Regaud — Hématoxyline.)

Fig. 1 à 3, 7 à 8 : $\times 1\ 600$.

Fig. 4 à 6, et 9 : $\times 2\ 000$.

Fig. 1 à 6. — *Dédifférenciation des cellules du parenchyme libérien primitif.*

Fig. 1. — Cellule du voisinage d'une ébauche de bourgeon. La figure représente la pellicule cytoplasmique supérieure. Nombreux chondriocotes allongés dont certains proviennent probablement des plastas dédifférenciés (au milieu et au bas de la figure).

Fig. 2. — Cellule de la région basale de l'ébauche. On y trouve encore quelques restes de plastas, mais le chondriome est en voie de segmentation. La vacuole est encore unique et la figure représente la pellicule cytoplasmique supérieure partiellement coupée.

Fig. 3. — Même représentation d'une cellule plus interne de l'ébauche. Le chondriome est déjà très divisé ; les mitochondries sont nombreuses et les chondriocotes beaucoup plus courts que dans les figures précédentes.

Fig. 4. — Deux cellules situées près du méristème en voie de formation. Le chondriome est très segmenté et ses éléments se sont condensés presque tous en mitochondries granuleuses de fortes dimensions. Les divisions par étranglement continuent d'ailleurs. La cellule de gauche montre le début de la segmentation de la vacuole.

Fig. 5. — Assise épidermique du méristème d'une ébauche de bourgeon. Les cellules ont subi des divisions répétées d'où résultent leur étroitesse et leur aspect comprimé. Les noyaux, comprimés également, sont devenus ovoïdes ou ellipsoïdes. Les vacuoles primitives sont segmentées en nombreuses petites vacuoles qui prennent les formes étirées bien connues dans les cellules méristématiques. Le chondriome est formé d'éléments très petits et très nombreux, issus de nouvelles divisions de mitochondries telles que celles de la figure 4. A la fin de la dédifférenciation, certaines se sont allongées en fins chondriocotes.

Fig. 6. — Un autre exemple d'ébauche méristématique de bourgeon, où les cellules sont moins comprimées. Les noyaux sont à peu près sphériques et le cytoplasme renferme des vacuoles moins étirées, souvent globuleuses. Le chondriome est ici encore à l'état de petits éléments très nombreux ; les mitochondries sont prédominantes, mais on retrouve de nouveau de fins chondriocotes.

Fig. 7 à 9. — *Dédifférenciation des cellules du parenchyme libérien néoformé.*

Fig. 7. — Cellule différenciée du parenchyme libérien néoformé. On reconnaît des plastas dont certains ont le même aspect vésiculeux que les plastas des cellules du parenchyme initial. Le chondriome comprend en outre des mitochondries, de courts bâtonnets et de longs chondriocotes.

EXPLICATION DES PLANCHES

La figure représente la pellicule cytoplasmique pariétale supérieure, partiellement coupée. La vacuole, unique, occupe presque tout le volume de la cellule.

- Fig. 8. — Premiers cloisonnements indiquant le début de formation d'une ébauche de bourgeon : les plastes sont à peu près dédifférenciés (quelques gros chondriosomes se distinguent encore vers le bas de la figure). Les chondriosomes se segmentent (région droite de la figure), forment des mitochondries granuleuses (cellules de la région moyenne), qui continuent à se segmenter puis donnent à nouveau de fins chondriocontes (région gauche). La vacuole unique (cellule inférieure) se segmente également ; avec un léger retard sur le chondriome, et progressivement (les étapes en sont visibles, depuis la cellule inférieure droite jusqu'à la cellule supérieure gauche).
- Fig. 9. — Fragment de méristème d'une ébauche de bourgeon plus avancée. Structure analogue à celle des figures 5 et 6, mais on remarque particulièrement le grand nombre de chondriosomes. Les mitochondries sont très abondantes et çà et là se rencontrent de fins chondriocontes. Dans ce méristème plus avancé que ceux des figures 5 et 6, les vacuoles ont des formes particulièrement rameuses et étirées, bien caractéristiques de cellules embryonnaires. Les noyaux sont très grands, relativement aux dimensions des cellules, dont ils occupent la région centrale.

PLANCHE XXIII

TUMEURS CORTICALES DE TOMATE.

PREMIÈRE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES DE L'ÉCORCE EXTERNE LORS DU DÉVELOPPEMENT DE TUMEURS.

(Regaud-Héματοxyline.)

Fig. 1 et 2 : $\times 1\ 250$.

Fig. 3 à 22 : $\times 2\ 000$.

Toutes les figures représentent des lambeaux plus ou moins coupés de pellicules cytoplasmiques pariétales vues de face.

- Fig. 1. — Cellule normale de l'assise externe du collenchyme d'une tige très jeune. Chloroplastes chargés d'amidon. Chondriosomes en granules ou en bâtonnets.
- Fig. 2. — Vésiculation précoce des chondriosomes, annonçant la reprise d'activité prolifératrice.
- Fig. 3 et 4. — Premières divisions des chloroplastes, après la résorption de l'amidon. Certains portent plusieurs étranglements simultanés. Étirement des régions étranglées et formation d'appendices filamenteux très fins (fig. 4).
- Fig. 5. — Stade plus avancé. Remarquer la vésiculation des chondriosomes.
- Fig. 6. — Stade plus avancé. La région centrale des chondriosomes vésiculisés est à peu près résorbée, et le chondriome est revenu à l'état de mitochondries homogènes, de forte taille.
- Fig. 7. — Processus de vésiculation atteignant les plastes en voie de segmentation.
- Fig. 18 à 15. — Dispersion des chloroplastes en éléments de plus en plus petits. Les figures 9, 10 et 11 présentent des processus d'étirement très marqués. Les chondriosomes se dévésiculisent, prennent des formes granuleuses de forte taille (fig. 10, 13, 14), puis commencent à revenir à l'aspect de mitochondries normales et de courts bâtonnets (fig. 11, 15 : cellule supérieure).
- Fig. 16 à 21. — Achèvement de la dédifférenciation des plastes, qui se transforment en mitochondries de moins en moins distinctes des mitochondries ordinaires.
- Fig. 22. — Cellule à la fin de la première phase de dédifférenciation. Les plastes sont à peu près confondus avec les chondriosomes, qui se diversifient de nouveau en mitochondries et en courts bâtonnets. La vacuole de cette cellule commence à se segmenter.

PLANCHE XXIV

TUMEURS CORTICALES DE TOMATE.

PREMIÈRE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION DES CELLULES CORTICALES INCORPORÉES AUX TUMEURS (ACCROISSEMENT PAR APPPOSITION).

(Regaud-Héματοxyline.) ($\times 1\ 800$.)

- Fig. 1. — Vésiculation des chondriosomes, en particulier des courts chondriocontes, qui restent porteurs d'un appendice homogène. Premières divisions des chloroplastes.
- Fig. 2. — Dévésiculation des chondriosomes, qui reviennent d'abord à l'état de mitochondries

EXPLICATION DES PLANCHES

de grande taille ou de chondriocotes plus épais que d'ordinaire. Plastes piriformes à la suite des premières divisions.

Fig. 3. — Stade plus avancé : nouvelles bipartitions des chloroplastes. Début d'allongement des chondriocotes dévésiculés.

Fig. 4 à 7. — Stades de plus en plus avancés : divisions répétées des chloroplastes qui deviennent de plus en plus petits et sphériques. Allongement progressif des chondriocotes en filaments flexueux.

Fig. 8. — Cellule d'une zone génératrice néoformée. Petits plastes sphériques, presque confondus avec les mitochondries granuleuses. Longs chondriocotes flexueux.

PLANCHE XXV

TUMEURS CORTICALES DE TOMATE.

VÉSICULISATION RÉVERSIBLE DES CHLOROPLASTES.

(Regaud-Hématoxyline.) ($\times 1\ 800$.)

Fig. 1. — Début de la différenciation. Nombreux chondriosomes vésiculés. La vésiculation atteint quelques chloroplastes.

Fig. 2. — Chondriosomes et plastes vésiculés. Quelques-uns de ces derniers en voie de division.

Fig. 3. — Les chloroplastes sont tous vésiculés et présentent des appendices en forme de virgules où se concentre déjà la substance plastidiale.

Fig. 4. — Stade plus avancé, où les vésicules déjà réduites se résorbent à l'intérieur de la substance plastidiale.

Fig. 5. — Cas où beaucoup de plastes vésiculés abandonnent leur inclusion centrale peu colorable dans le cytoplasme. La substance plastidiale se rassemble sur le pourtour de l'inclusion sous forme de granules, de bâtonnets ou de cupules qui ressemblent déjà beaucoup aux chondriosomes non vésiculés, mais sont plus volumineux.

Fig. 6. — Fin de régression des vésicules plastidiales. Certaines se transforment déjà en longs chondriocotes.

Fig. 7. — Cellule de la zone génératrice nouvellement formée, avec chondriocotes allongés et flexueux, souvent ramifiés.

PLANCHE XXVI

TUMEURS CORTICALES DE TOMATE.

VÉSICULISATION IRRÉVERSIBLE DES PLASTES ET DES CHONDRIOSOMES.

(Regaud-Hématoxyline.) ($\times 1\ 500$.)

Fig. 1. — Début de vésiculation des plastes, déjà parvenus à un stade avancé de leur régression (comparable à fig. 18, Pl. XXIII).

Fig. 2. — Vésiculation plus étendue. Remarquer que les chondriosomes ont l'aspect de mitochondries volumineuses ; ils sont déjà revenus de leur vésiculation réversible du début de l'évolution.

Fig. 3. — Accroissement de la vésiculation des plastes et nouvelle vésiculation des chondriosomes.

Fig. 4. — Cellules à chondriome vésiculés irréversiblement, qui demeurent telles quelles dans les tissus de la tumeur où elles ne prolifèrent plus.

Fig. 5. — Début de vésiculation d'une cellule ayant subi toute la première phase de différenciation et faisant déjà partie d'une zone génératrice. Le processus atteint les éléments granuleux et les longs chondriocotes.

Fig. 6. — Stade plus avancé, montrant les chondriocotes vésiculés, dont les dimensions deviennent considérables.

Fig. 7. — Cellules voisines des précédentes, avec vésicules dilatées et déformées.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE XXVII

TUMEURS CORTICALES DE TOMATE.

STRUCTURE CYTOLOGIQUE A LA FIN DE LA PREMIÈRE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION.

(Regaud-Hématoxyline.) ($\times 1\,500$.)

- Fig. 1. — Grandes cellules de la tumeur, ne présentant pas de plastes différenciés. Chondriome formé de mitochondries, de bâtonnets et de courts chondriocontes.
- Fig. 2. — Cellules présentant des chloroplastes peu évolués et peu pigmentés, n'élaborant pas d'amidon et conservant plus ou moins des formes de chondriosomes.
- Fig. 3. — Cellule présentant des chloroplastes plus différenciés, qui élaborent des grains d'amidon, mais conservent des formes irrégulières et restent peu pigmentés, caractères paraissant traduire un état chétif ou pathologique de la cellule.
- Fig. 4 et 5. — Cellules de parenchyme dérivé des zones génératrices, dans une tumeur âgée. Vésiculation considérable d'une partie du chondriome.

PLANCHE XXVIII

TUMEURS CORTICALES DE TOMATE. SECONDE PHASE DE DÉDIFFÉRENCIATION.

(Regaud-Hématoxyline.)

Fig. 1 à 5 : $\times 1\,500$.

Fig. 6 à 8 : $\times 2\,000$.

- Fig. 1. — Cellules de la région périphérique : l'assise externe commence à s'organiser en une sorte d'assise épidermique néoformée. A la partie supérieure, se trouvent des débris de cellules périphériques exfoliées.
- Fig. 2. — Début de la seconde phase : nombreuses trabécules cytoplasmiques à travers la vacuole. Longs chondriocontes. Petits plastes sphériques encore distincts. Noyaux contre les membranes.
- Fig. 3. — De bas en haut : premiers cloisonnements de la vacuole ; passage du noyau au centre des cellules ; chondriocontes de plus en plus courts.
- Fig. 4. — Cellules résultant des cloisonnements orientés des cellules de l'assise externe de la tumeur. Les vacuoles sont de plus en plus petites et nombreuses. Les chondriocontes continuent à se raccourcir. Cellule morte au-dessus de l'assise épidermique nouvelle. Certains noyaux, résultant de mitoses récentes, ont encore leurs deux nucléoles télophasiques non fusionnés.
- Fig. 5. — Future assise épidermique d'une très jeune ébauche de méristème. Cellules étroites et hautes, surmontées des débris des cellules mortes plus externes. Chondriome dispersé en éléments granuleux ou en courts bâtonnets. Chondriocontes rares. Certaines vacuoles commencent à prendre les formes étirées caractéristiques des cellules méristématiques et renferment des précipités hétérogènes (deux cellules médianes) ou homogènes, colorés entièrement en noir (cellule de droite).
- Fig. 6. — Groupe cellulaire du sommet méristématique d'un bourgeon néoformé. Vacuoles renfermant des précipités abondants, dont la couleur réelle après la fixation au Regaud varie du jaune ocre au brun foncé et au noir. Certaines cependant sont vides et filamenteuses. Les chondriosomes continuent à se diviser et les mitochondries deviennent prépondérantes sur les bâtonnets. Les chondriocontes ont à peu près disparu.
- Fig. 7. — Cellules plus internes du méristème, vacuoles méristématiques typiques filamenteuses et ramifiées. Pas de précipités tanniques. Chondriome presque entièrement granuleux.
- Fig. 8. — Petites cellules superficielles de la tumeur (cellules mortes exfoliées à gauche) renfermant des vacuoles à tannins. Ces dernières forment soit des granules agglomérés, soit de petits cristaux. Chondriome presque entièrement granuleux.

PLANCHE XXIX

TUMEURS CORTICALES DE TOMATE.

($\times 2\,000$.)

- Fig. 1. — Dessin fragmentaire d'une cellule sous-épidermique observée vitalemment au début de la reprise d'activité qui entraînera sa différenciation. Chloroplastes encore inchangés, renfermant des grains d'amidon, mais début de vésiculation des chondriosomes.

EXPLICATION DES PLANCHES

- Fig. 2. — Stade plus avancé. Divisions des chloroplastes, qui ont résorbé leurs grains d'amidon. Nombreux chondriosomes transformés en petites vésicules, granulations lipidiques plus réfringentes (observation vitale).
- Fig. 3 et 4. — Deux cas de vésiculation des chloroplastes en voie de dépigmentation. Dans la figure 4, les chloroplastes étaient en outre en train de se diviser par étranglements. Beaucoup de chondriosomes sont également vésiculisés (observation vitale).
- Fig. 5 et 6. — Cellules mortes des régions périphériques de la tumeur, envahies par la zooglé de *Phytomonas tumefaciens*. Bactérie en bleu vert, structures nucléaires en violet. Remarquer la pycnose des noyaux nécrosés et les produits grossièrement coagulés dans les cellules mortes (Brasil, Bleu de Volkonsky).

PLANCHE XXX

MODIFICATIONS DE LA STRUCTURE DU NOYAU AU COURS DE LA DÉDIFFÉRENCIATION.

(Helly-Feulgen.) ($\times 3\ 000$.)

Fig. 1 à 7. — *Tomate (ébauches adventives)*.

- Fig. 1. — Noyau d'une cellule péricyclique normale. Nucléole petit, réseau lâche et léger.
- Fig. 2. — Noyau d'une cellule endodermique normale. Nucléole très petit, réseau lâche et fin.
- Fig. 3. — Noyau d'une cellule de parenchyme libérien. Réseau léger.
- Fig. 4. — Noyau d'une cellule issue du péricycle après la première phase de dédifférenciation. Nucléole plus grand que dans la figure 1. Chromocentres plus nombreux.
- Fig. 5 et 6. — Noyaux de cellules méristématiques d'ébauches néoformées. Réduction de volume. Chromocentres nombreux, trabécules du réseau épaissies.
- Fig. 7. — Noyau d'une cellule méristématique, observé dans la racine normale d'une germination. Structure analogue à celle des figures 5 et 6.

Fig. 8 à 11. — *Brimeura amethystina*.

- Fig. 8. — Noyau d'une cellule épidermique. Nucléoles en vert ; six chromocentres volumineux et réseau chromatique à larges mailles, en pourpre.
- Fig. 9. — Noyau d'une cellule méristématique de bulbille (origine épidermique). Nucléole volumineux, cinq gros chromocentres visibles, réseau chromatique très dense, à mailles très petites.
- Fig. 10. — Noyau d'une cellule normale du mésophylle. Structure comparable à celle de la figure 8.
- Fig. 11. — Noyau d'une cellule méristématique de racine néoformée (origine : mésophylle) ; les deux nucléoles télophasiques non fusionnés. Structure comparable à celle de la figure 9.

Fig. 12 et 13. — *Carotte*.

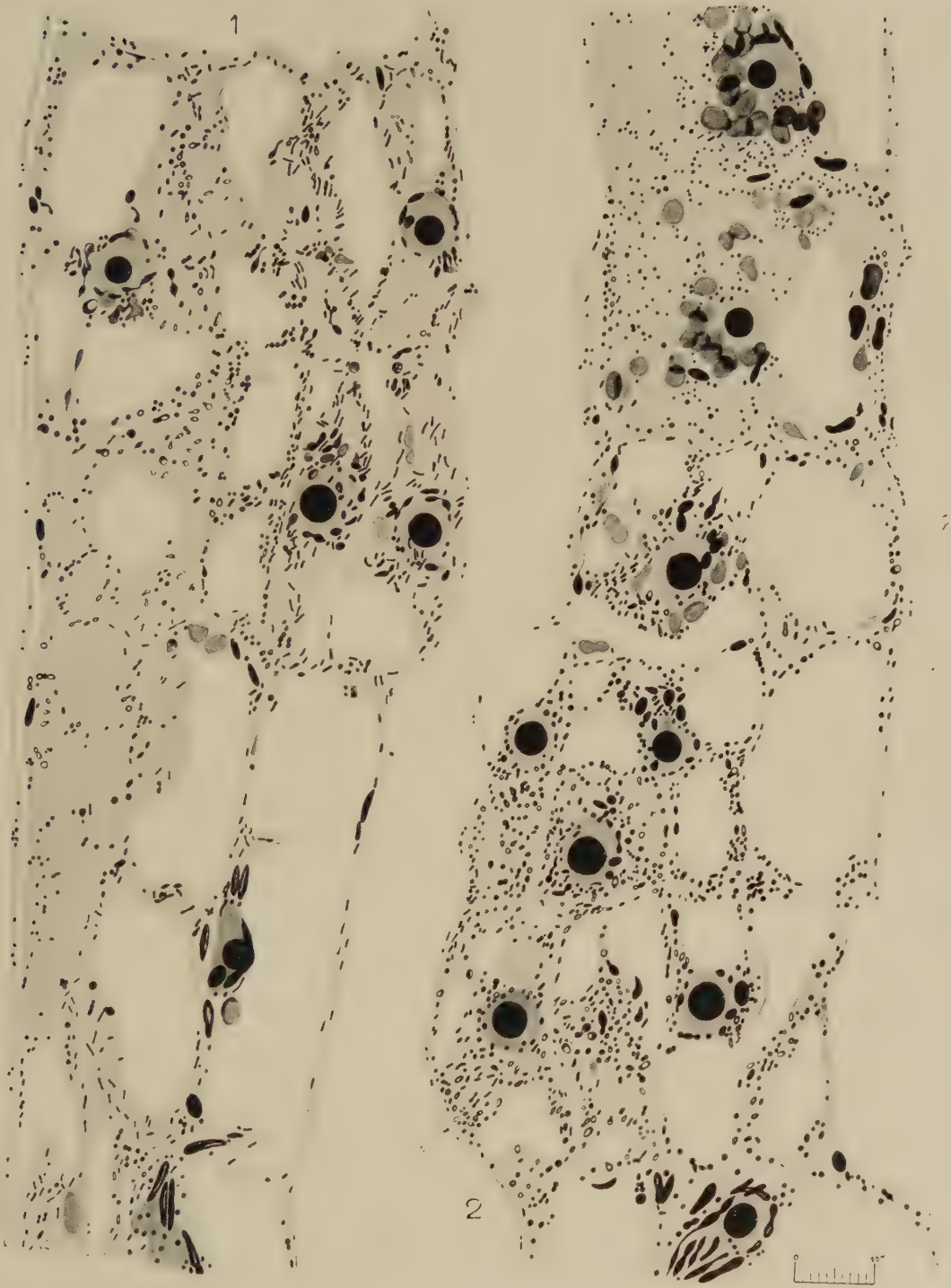
- Fig. 12. — Noyau d'une cellule normale du parenchyme libérien. Nucléole petit. Réseau à trabécules très fines, portant des chromocentres aux nœuds de ses mailles.
- Fig. 13. — Noyau d'une cellule méristématique de racine néoformée. Trabécules du réseau très épaissies. Chromocentres souvent plus volumineux.

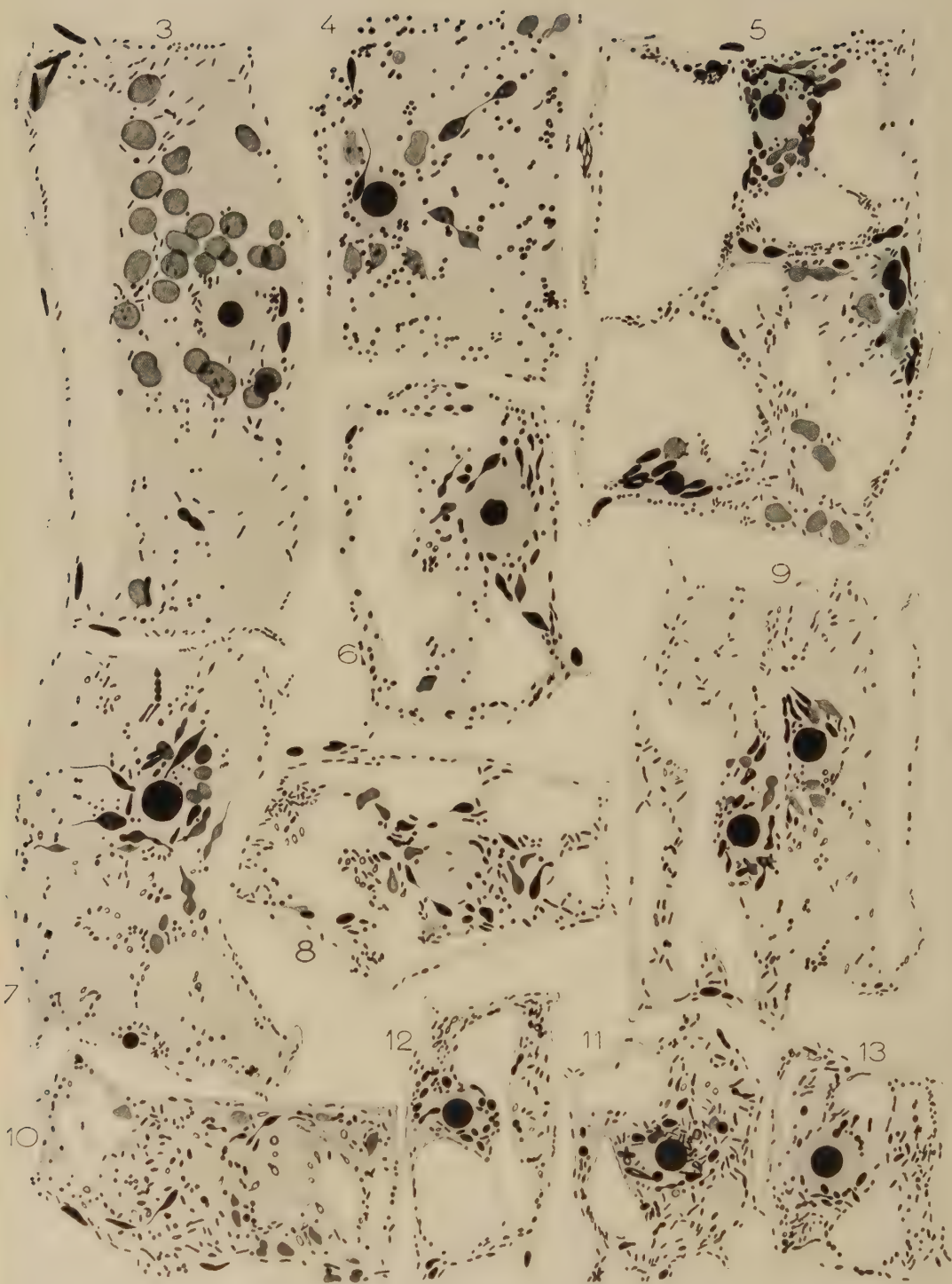
Fig. 14 à 17. — *Chicorée à café*.

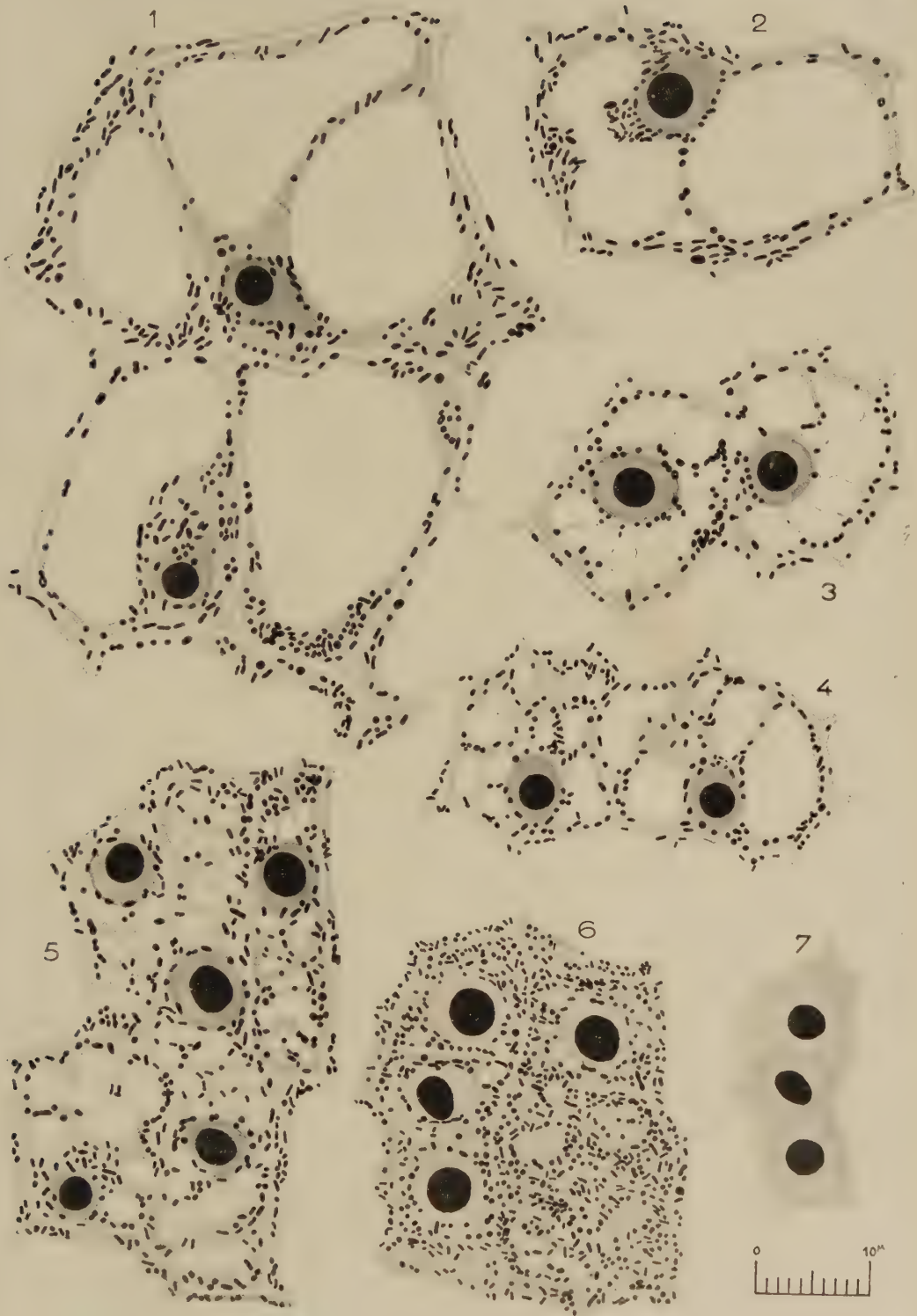
- Fig. 14. — Noyau d'une cellule normale de parenchyme libérien. Structure chromocentrique, avec réseau à mailles larges.
- Fig. 15. — Noyau d'une cellule normale de parenchyme vasculaire. Même structure.
- Fig. 16. — Noyau d'une cellule de la zone génératrice. Réseau plus accusé.
- Fig. 17. — Noyau d'une cellule méristématique de bourgeon néoformé. Épaississement des mailles du réseau. Densité plus grande des chromocentres.

Fig. 18 à 21. — *Tomate (tumeurs corticales)*.

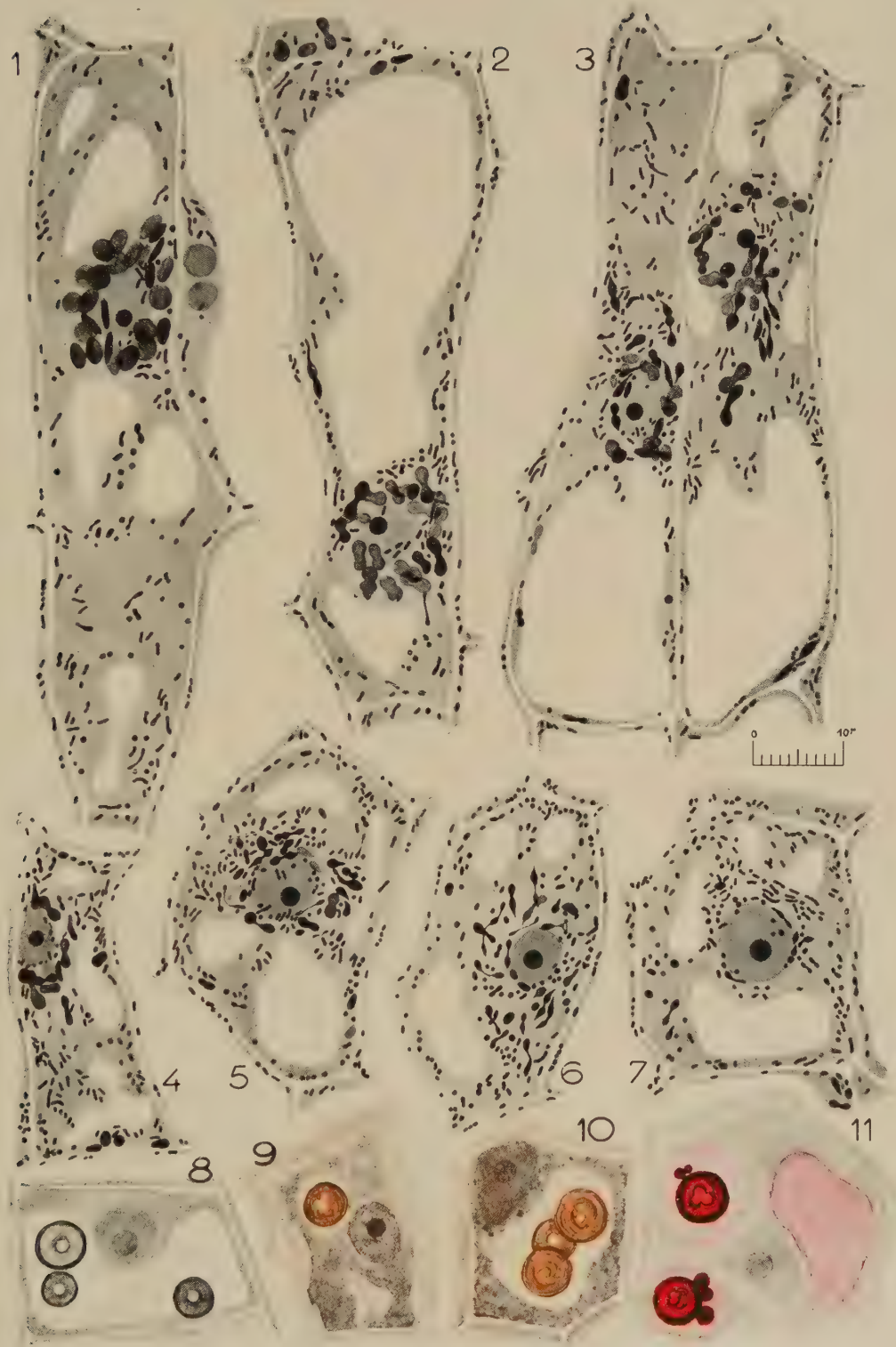
- Fig. 18. — Tomate. Noyau polyploïde d'une cellule de collenchyme. Aspects lobés évoquant l'accrolement de plusieurs masses nucléaires. Trois nucléoles encore distincts.
- Fig. 19. — Noyau d'une cellule sous-épidermique normale. Réseau chromatique léger, à mailles larges, quelques chromocentres volumineux.
- Fig. 20. — Noyau d'une cellule de tumeur très jeune. Léger épaississement des trabécules du réseau.
- Fig. 21. — Noyau d'une petite cellule périphérique, lors de la formation des ébauches méristématiques. Trabécules du réseau plus épaissies. Chromocentres plus serrés et plus volumineux dans l'ensemble.



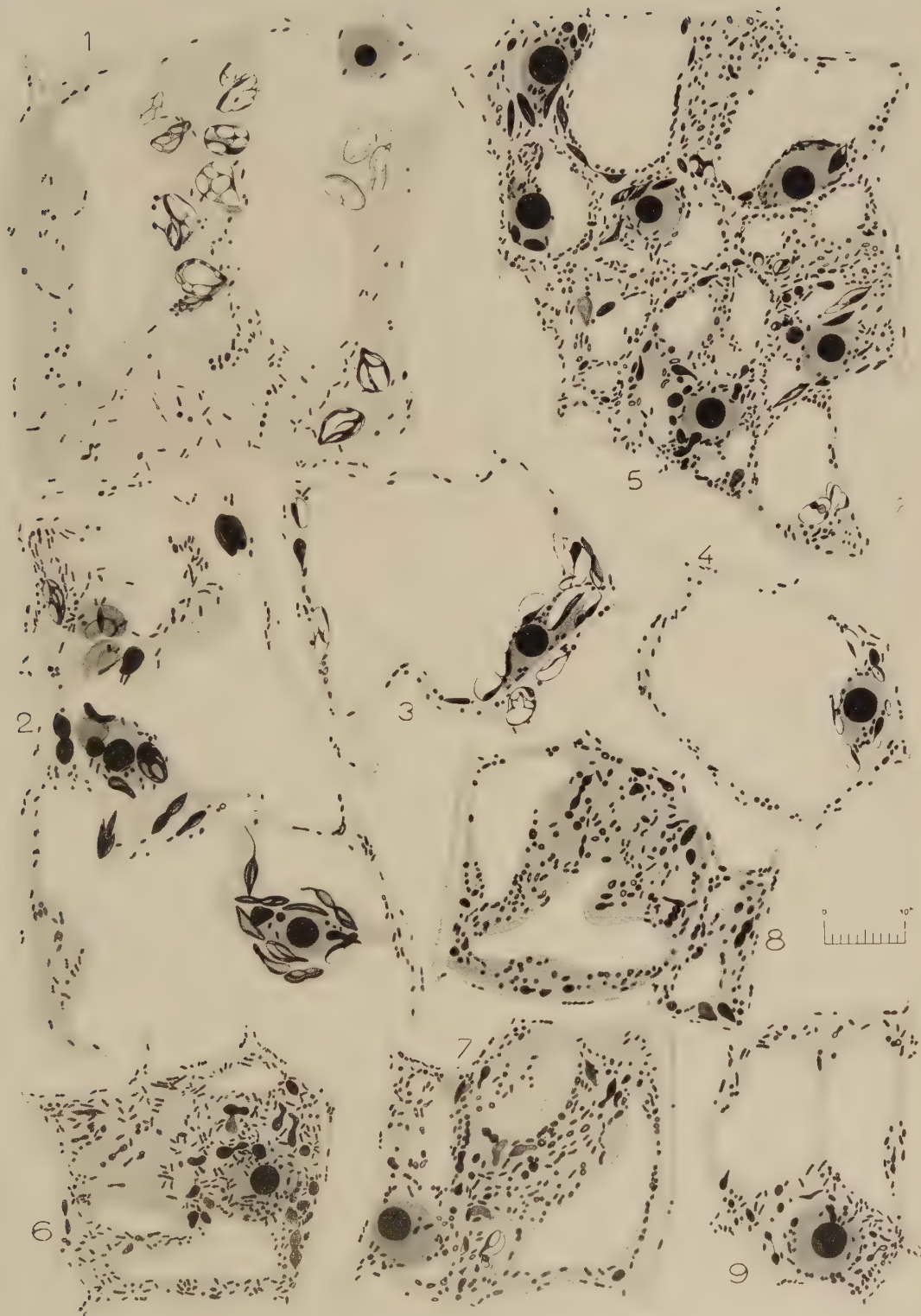




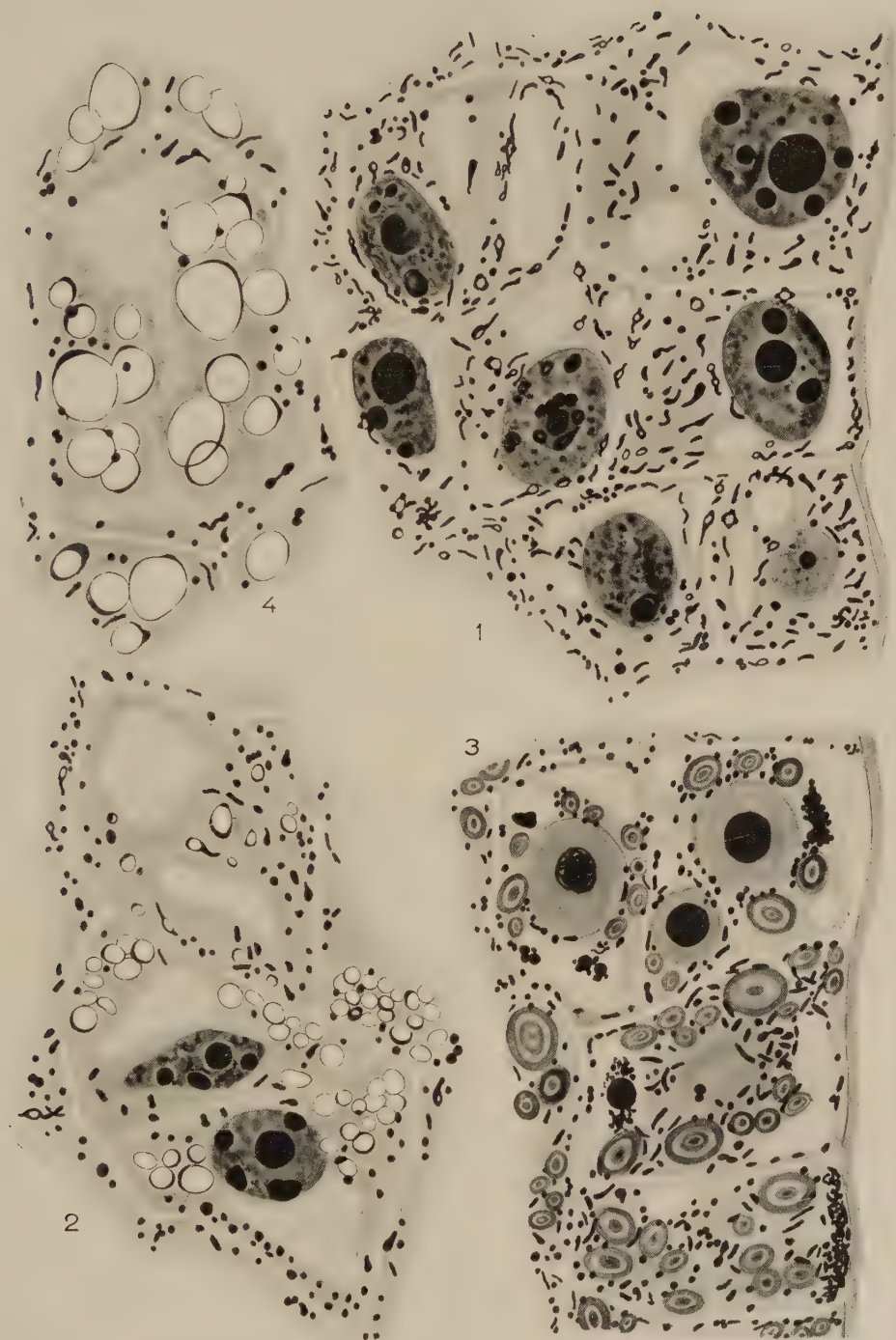


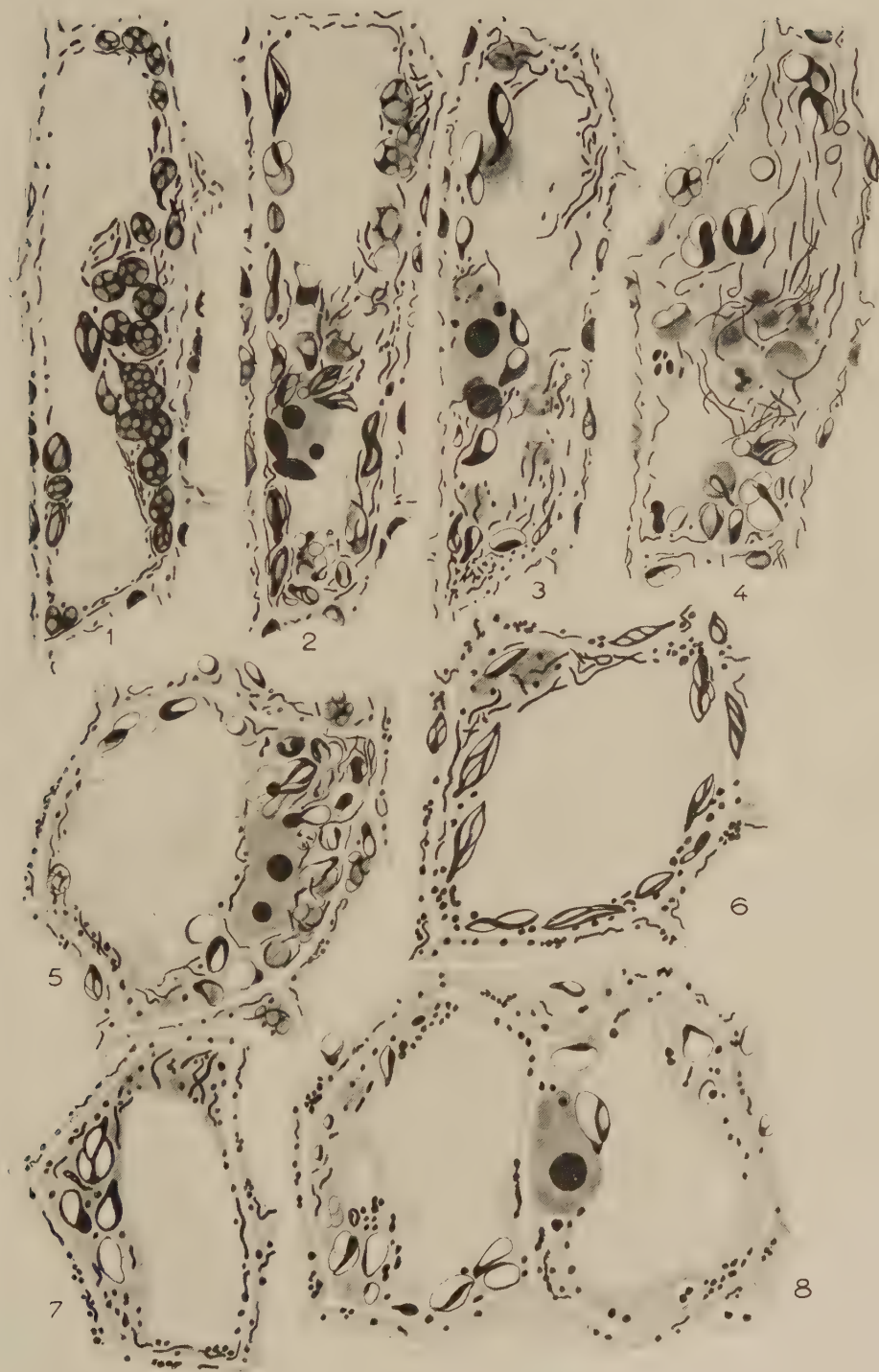




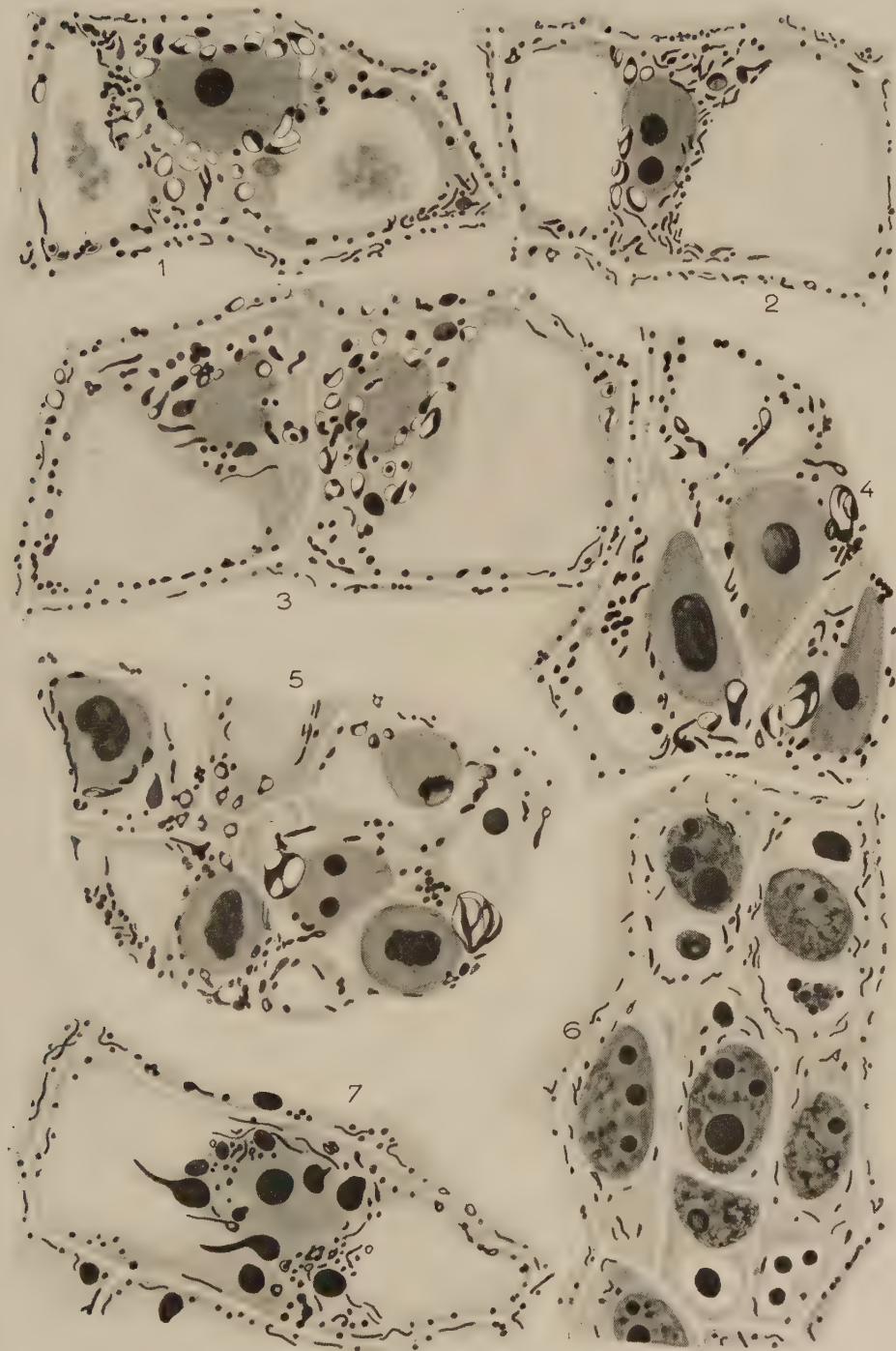


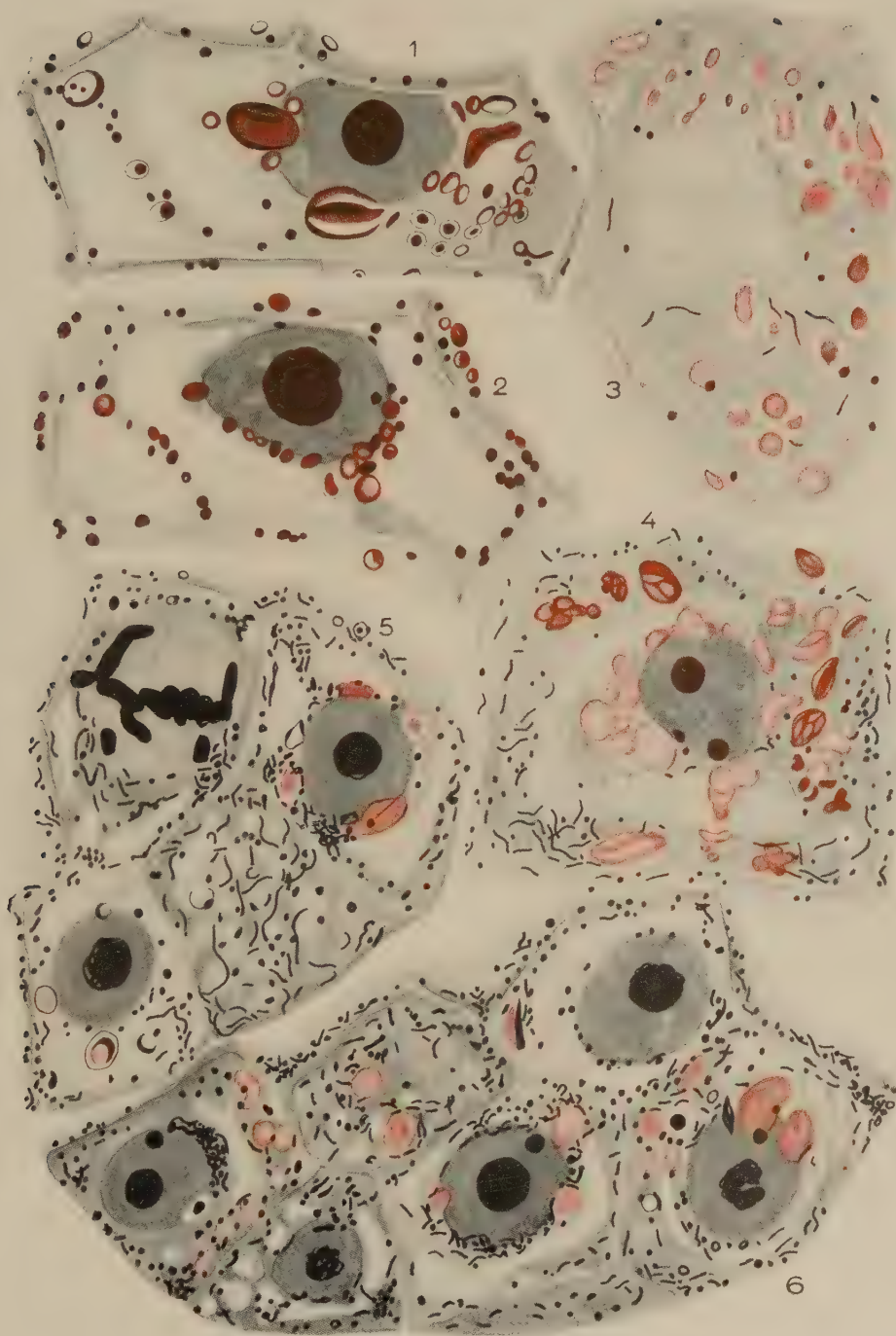


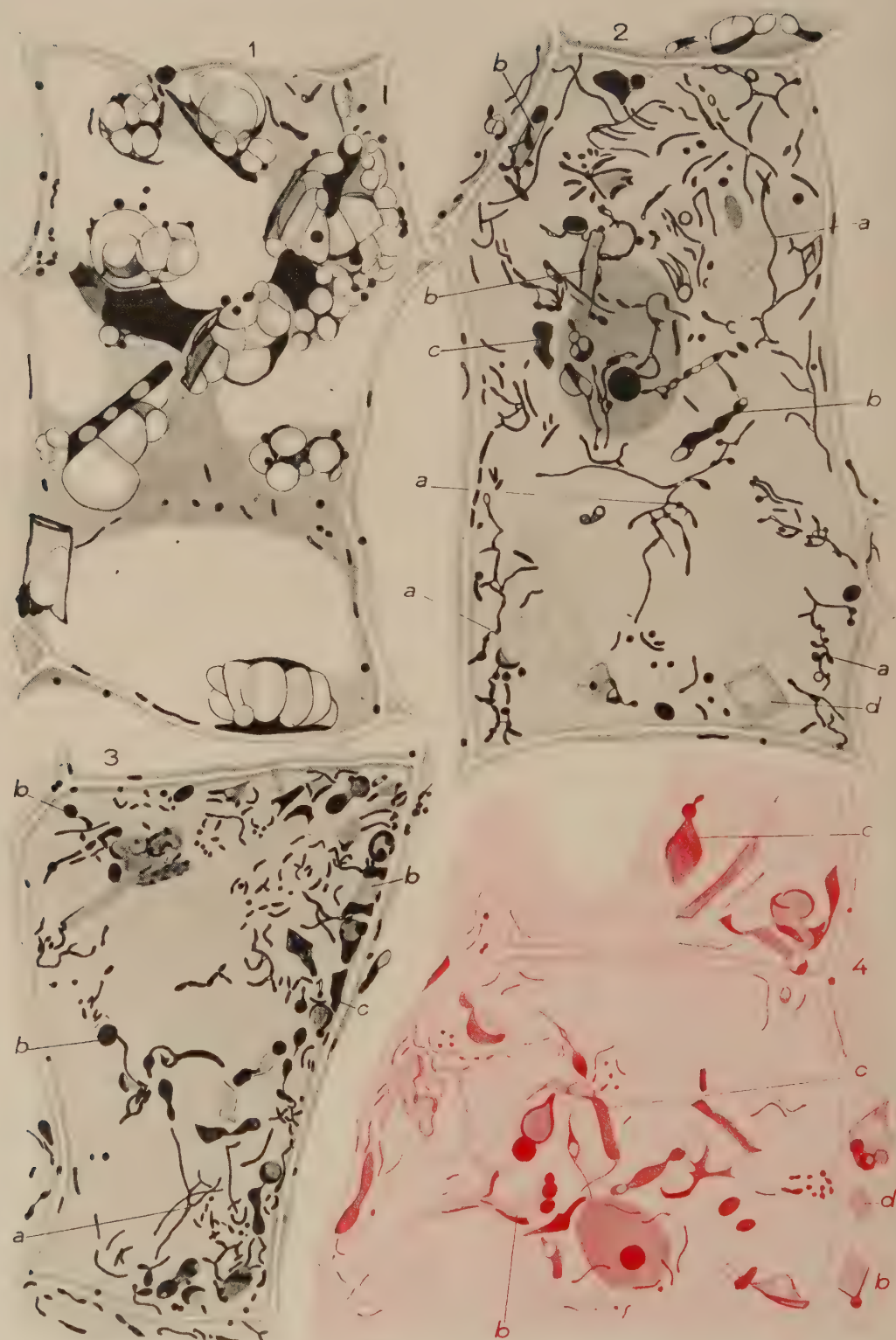


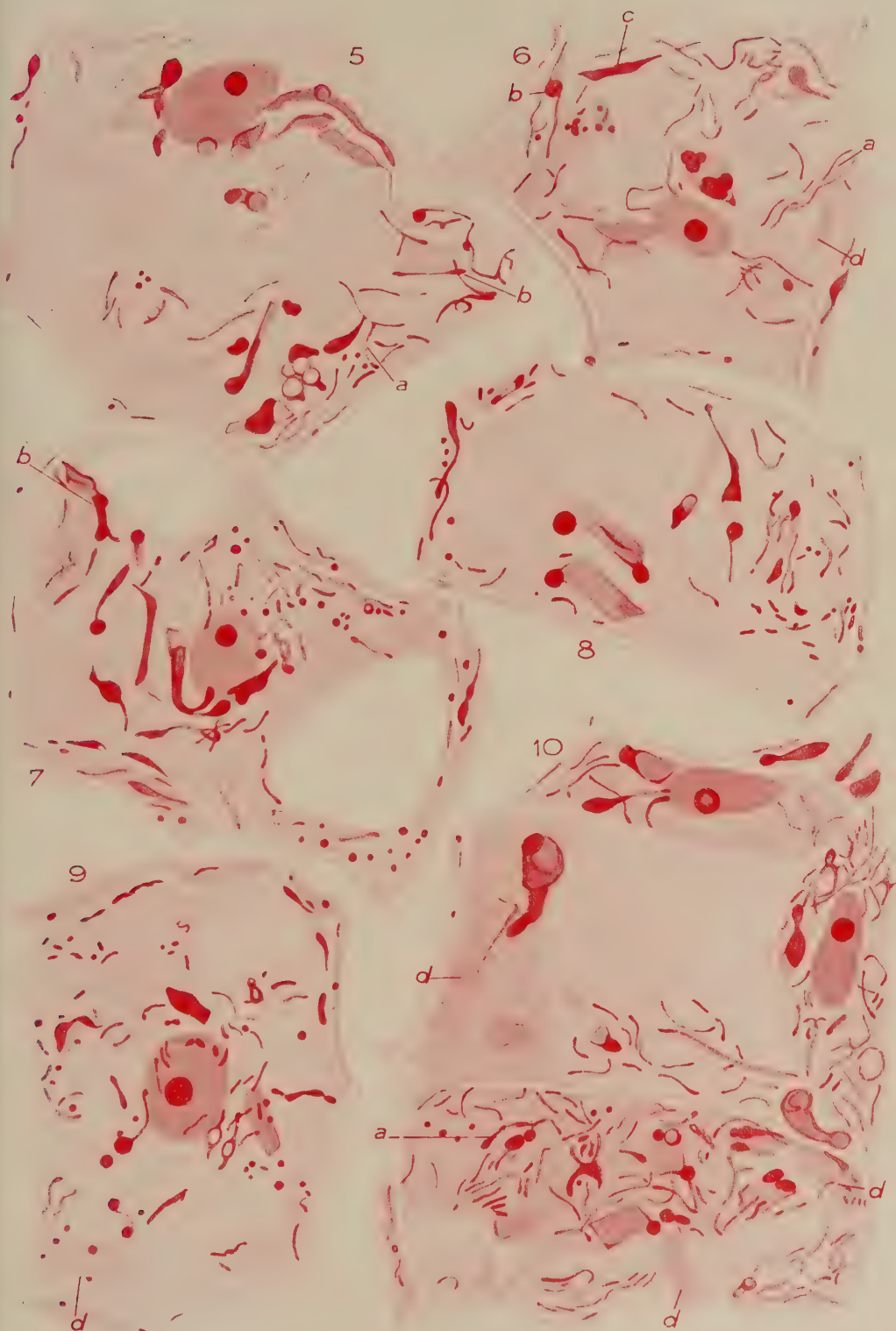














Pl. XIV bis.

